Lane Medical Library

Studien über die Zitronensäureausscheidung der Menschenniere

in normalen und pathologischen Zuständen

Von

Otto Östberg

(Aus dem physiologischen Institut und der medizinischen Klinik der Universität zu Lund)

Berlin und Leipzig 1931

WALTER DE GRUYTER & CO.

vormals G. J. Göschen'sche Verlagshandlung – J. Guttentag, Verlagsbuchhandlung – Georg Reimer – Karl J. Trübner – Veit & Comp.

Studien über die Zitronensäureausscheidung der Menschenniere

in normalen und pathologischen Zuständen

Von

Otto Östberg

(Aus dem physiologischen Institut und der medizinischen Klinik der Universität zu Lund)

Berlin und Leipzig 1931

WALTER DE GRUYTER & CO.

vormals G. J. Göschen'sche Verlagshandlung – J. Guttentag, Verlagsbuchhandlung – Georg Reimer – Karl J. Trübner – Veit & Comp.

Diese Arbeit erscheint in
„*Skandinavisches Archiv für Physiologie*“. Bd. LXII. (1931.)

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.

Vorwort.

Die Untersuchungen, deren Resultate hier vorgelegt werden, sind im Herbst 1928 angefangen worden. Mein verehrter Lehrer, Herr Professor Dr. med. Torsten Thunberg, Chef des physiologischen Instituts zu Lund, setzte mich dann in die Lage, unter seiner Leitung die Technik der von ihm ausgestalteten Methode zur Bestimmung der Zitronensäure zu lernen. Sowohl während der ersten 6 Monate, wo die Arbeit in dem physiologischen Institut ausgeführt wurde, als nachher, hat Professor Thunberg mir immer seine Erfahrung und seine Zeit mit außerordentlichem Wohlwollen zur Verfügung gestellt. Für dies alles spreche ich ihm meinen ehrerbietigen und herzlichsten Dank aus.

Der Hauptteil der Untersuchungen ist in der medizinischen Klinik ausgeführt worden, wo ich den Vorteil gehabt habe, Assistent zu sein. Meinem verehrten Chef, Herrn Professor Dr. med. Sven Ingvar, bin ich für das liebenswürdige Entgegenkommen, mit dem er stets meine Arbeit unterstützt hat, und für seine wertvollen Ratschläge zur größten Dankbarkeit verpflichtet.

Den Krankenpflegerinnen des Laboratoriums und der Krankenabteilungen der Medizinischen Klinik danke ich für die Bereitwilligkeit, mit der sie mir beim Ausführen der Untersuchungen stets beigestanden haben.

Fräulein Margit Schönström hat mir mit größter Sorgfalt Hilfe bei den Laborationen geleistet. Ich spreche ihr hier meinen herzlichen Dank aus. Die Übersetzung meiner Arbeit ins Deutsche ist von Dr. phil. Herbert Lamprecht ausgeführt, wofür ich ihm besten Dank sage.

Von der Medizinischen Fakultet zu Lund und Kungl. Fysiografiska Sällskapet sind ökonomische Beiträge für die Kosten dieser Arbeit bewilligt worden, für die ich gleichfalls meinen Dank ausspreche.

Lund, im Februar 1931.

Otto Östberg.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154803_0002

Inhalt.

		Seite
Vorwort		1
Kap. I.	Das Vorkommen der Zitronensäure	1
Kap. II.	Methoden zur Bestimmung der Zitronensäure	5
	A. Früher angewandte Methoden	5
	B. Thunbergs Methode	8
	1. Prinzip	8
	2. Ausführung	9
	3. Kritik	18
	C. Vergleichende Untersuchungen zwischen der Thunbergmethode und der Pentabromazotonmethode	30
Kap. III.	Die Ausscheidung der Zitronensäure durch die Nieren	40
	A. Die normale Zitronensäureausscheidung	40
	B. Schwankungen in der Zitronensäureausscheidung bei Zufuhr verschiedener Stoffe	44
	1. Frühere Untersuchungen	44
	2. Eigene Untersuchungen	46
Kap. IV.	Die Rolle der Zitronensäureausscheidung im Dienste der Säure-Basen-Regulierung	65
Kap. V.	Über die Herkunft der Zitronensäure des Harns	72
Kap. VI.	Über die gegenseitige Beeinflussung von Kalzium und Zitronensäure im Organismus	80
	A. Über die Relation zwischen der Ausscheidung der Nieren von Kalzium und Zitronensäure	85
	B. Die Bedeutung der Zitronensäure für die Löslichkeit der Kalziumsalze im Harn	91
Kap. VII.	Die Zitronensäureausscheidung bei Krankheiten	98
	1. Nierenkrankheiten	98
	2. Pneumonia cruposa	114
	3. Diabetes mellitus	115
	4. Blutkrankheiten	121
	5. Incompensatio cordis	125
	6. Einige andere Krankheiten	126
Zusammenfassung		130
Literatur		131

Studien
über die Zitronensäureausscheidung der Menschenniere in normalen und pathologischen Zuständen.

Von

Otto Östberg.

(Aus dem physiologischen Institut und der medizinischen Klinik der Universität zu Lund.)

(Mit 25 Figuren im Text.)

Kap. I. Das Vorkommen der Zitronensäure.

Die Zitronensäure, die von Scheele im Jahre 1784 entdeckt wurde, ist eine vieratomige, dreibasische, aliphatische Karbonsäure mit der Konstitutionsformel: $CH_2COOH—C(OH)COOH—CH_2COOH$. Sie findet sich in der Natur ziemlich häufig vor. Viele Untersuchungen über ihr Vorkommen sind mit wechselnden Methoden ausgeführt.

Franzen und Helwert (1923 A) haben eine Zusammenstellung und kritische Prüfung von 223 Arbeiten über das Vorhandensein der Zitronensäure in 137 Pflanzen gegeben. Zwar waren laut diesen Verfassern die dabei angewandten Methoden in der Mehrzahl der Untersuchungen nicht zuverlässig, weshalb sie das Vorkommen in nur 16 Pflanzen als bewiesen und in weiteren drei als wahrscheinlich betrachteten. Bei späteren Untersuchungen mit modernerer Technik ist aber das allgemeine Vorkommen der Zitronensäure, besonders in Beeren und Früchten, festgestellt worden. In einer großen Mehrzahl derselben, die zum Genuß verwendet werden, ist also Zitronensäure angetroffen worden: in Zitronen, Apfelsinen, „Grape-fruits", Johannisbeeren, Trauben, Vogelkirschen, Preiselbeeren, Himbeeren, Maulbeeren, Erdbeeren, Äpfeln, Tomaten, Bananen, Ananasen, sowie in Erbsen und Bohnen u. a. (Franzen und Helvert 1923 A und B, Franzen und Kaiser 1923, Salvador 1923, Galanos 1926, Hartmann und Hillig 1928, Heiduschka und Pyriki 1927 und 1929.) Man irrt sich wohl nicht in der Vermutung, daß auch

viele andere Beeren und Früchte Zitronensäure enthalten. Der Gehalt davon wechselt, auch innerhalb derselben Art in verschiedenen Proben. In Zitronen, die die an Zitronensäure reichste sein dürften, beträgt sie etwa 5 Proz.

In Milch und Milchprodukten kommt Zitronensäure ziemlich reichlich vor (siehe unten). Ferner ist sie in Säften und Musen aus zitronensäurehaltigen Beeren und Früchten zubereitet, sowie in Weinen vorhanden (siehe u. a. Reichard 1926 mit ausführlichem Literaturverzeichnis). Auf Grund dieses Vorkommens in Nahrungs- und Genußmitteln ist der Nachweis und die quantitative Bestimmung der Zitronensäure ein Gegenstand großen Interesses und genauer Untersuchungen gewesen.

Die erste zuverlässige Methode, mit der kleinere Mengen nachgewiesen werden konnten, wurde von Stahre (1895 und 1897) angegeben. Sie stützt sich auf das Verhältnis, daß Zitronensäure in schwefelsaurer Lösung bei Gegenwart von Brom durch Kaliumpermanganat unter der Bildung eines Niederschlages von Pentabromazeton oxydiert wird.

Bei der Methode von Denigès wird die Zitronensäure in schwefelsaurer Lösung bei Gegenwart von Quecksilbersalz mit Kaliumpermanganat oxydiert, wobei ein Niederschlag entsteht, der aus einer Doppelverbindung von Merkurisulfat und Azetondikarbonsäure besteht (1899, 1901).

Es sind hauptsächlich diese zwei Methoden, die bei Zitronensäureanalysen zur Verwendung gekommen sind. Die Ausfällung von Salzen der Zitronensäure aus verschiedenen Lösungen ist teils als selbständige Methode, teils als vorbereitende Separierung zu einer der anderen Methoden benutzt worden.

Der Nachweis von Zitronensäure im tierischen Organismus erfolgte zum erstenmal im Jahre 1888, als Henkel im Laboratorium von Soxhlet durch einen Zusatz von CaO zu einem eiweißfreien Serum von Kuhmilch nach Filtration beim Eindunsten einen Niederschlag erhielt, der zu $^9/_{10}$ aus Kalziumzitrat bestand (Soxhlet 1888, Henkel 1888). Bei Untersuchung einer großen Anzahl von Kuhmilchproben zeigte es sich, daß aus 1 Liter Milch 0·9 bis 1·1 g Zitronensäure erhalten wurden. Soxhlet teilte ferner mit, daß die in kondensierter Milch oft angetroffenen Konkretionen fast aus reinem zitronensaurem Kalk bestanden. Bei diesen ersten Versuchen wurden mit der Methode in Frauenmilch negative Befunde erhalten; 1891 gelang es aber Scheibe, 0·54 bis 0·57 g Zitronensäure per Liter daraus zu isolieren. Er fand auch 1·0 bis 1·5 g Zitronensäure per Liter Ziegenmilch, sowie 1·7 bis 2·0 g per Liter Kuhmilch (Scheibe 1891). Durch spätere Untersuchungen glaubte Henkel (1891) mit Bestimmtheit feststellen zu können, daß die Zitronensäure ein normaler Milchbestandteil und kein durch das Verfahren bei der Analyse ent-

standenes Spaltungsprodukt sei. Vaudin (1894) verwendete eine andere Methode, die er für sicherer als die von Henkel hielt, und fand mit derselben in Kuhmilch 1·0 bis 1·5 g sowie in Stutenmilch 0·6 bis 0·8 g Zitronensäure per Liter. Nachdem Stahre seine Reaktion zum Nachweis der Zitronensäure mitgeteilt hatte, wurde diese von Wöhlk (1902) auch zu Milchuntersuchungen mit positivem Resultat verwendet. Beau (1904) wandte die Methode von Denigès an und bestimmte damit den Zitronensäuregehalt der Kuhmilch zu 1·81 bis 2·24 g per Liter. Im Emmenthaler Käse wurden von Winterstein (1904) kleine Mengen Zitronensäure nachgewiesen. In einer Untersuchung über das Verhalten des Kaseins und der Salze in der Milch führen Van Slyke und Bosworth (1915) eine Milchanalyse an, in der der Wert für Zitronensäure zu 0·237 g per 100 ccm Milchserum angegeben wird. Kunz (1915) untersuchte mit seiner Modifikation von Stahres Reaktion gleichfalls Frauenmilch und fand darin 0·44 bis 0·62 g per Liter (siehe auch Kunz 1920). Suppley und Bellis (1921), sowie Steuart (1924) trafen in verschiedenen Sorten von kondensierter Milch und Trockenmilch Zitronensäure in einer Quantität, die dem Zitronensäuregehalt des Ausgangsmaterials (1 bis 2 g per Liter) entsprach. Mit einer von Bleyler und Schwaibold (1925) angegebenen Modifikation von Stahres Reaktion fanden diese Verfasser, sowie Kieferle, Schwaibold und Hackmann (1925) 1·0 bis 1·5 g per Liter Frauenmilch, 1·55 bis 1·80 g per Liter Ziegenmilch, und 2·7 g per Liter Kuhmilch. Jerlow (1929) traf mit Thunbergs Methode eine Zitronensäuremenge von 0·33 bis 1·25 g per Liter Frauenmilch.

Im Harn wurde Zitronensäure als normaler Bestandteil zuerst von Amberg und McClure (1917) nachgewiesen, die, unter Benutzung der von Kunz angegebenen Modifikation von Stahres Reaktion, den Harn drei gesunder Personen untersuchten. Die erhaltenen Werte lagen zwischen 0·440 und 0·548 g Zitronensäure per Tag. Schon im Jahre vorher hatten Salant und Wise (1916) mit einer Modifikation von Denigès' Methode Zitronensäure im Harn von Versuchstieren, denen sie große Mengen Zitrat per os oder mit subkutaner bzw. intravenöser Injektion zugeführt hatten, nachgewiesen. Im Jahre 1921 zeigten Amberg und Maver, daß aus dem Harn ein Bariumsalz isoliert werden kann, das die Reaktionen der Zitronensäure gibt. Umfangreichere Untersuchungen über den Zitronensäuregehalt des Harns wurden von McClure und Sauer (1922) mitgeteilt. Sie führten gleichzeitige Bestimmungen mit der Pentabromazetonmethode und der Methode von Salant und Wise an 40 Kindern im Alter von 7 Monaten bis 14 Jahren aus. Die erhaltenen Werte schwankten zwischen 30 und 431 mg per Tag. Sie erhielten nur in 15 Fällen gute Übereinstimmung zwischen den beiden Methoden. Die Pentabromazetonmethode wurde als die zur quantitativen Zitronensäure-

analyse des Harns geeignetste Methode empfohlen. Mc Clure (1922) bestimmte die Zitronensäuremenge an acht Erwachsenen zu 0·18 bis 0·34 Promille, sowie an einem Kinde zu 0·46 Promille. Im Harn von Schweinen wurde Zitronensäure als ein normaler Bestandteil von Woods (1926—1927) nachgewiesen.

Seither sind in der Literatur keine Angaben über den Zitronensäuregehalt des Harns erschienen, bis Thunberg (1929 A) in dem Bericht über seine Zitronensäureanalysenmethode einige Versuche mit Harn erwähnt, wobei Zitronensäure in einer Menge von 0·36 bzw. 1·35 Promille nachgewiesen worden ist. Östberg (1929) teilt das Ergebnis von 25 Untersuchungen mit, mit der Methode von Thunberg vorgenommen, bei denen die Werte zwischen 0·23 und 1·85 g Zitronensäure per Tag gelegen hat. Schließlich wurde von Fasold (1930 A und B) Zitronensäure aus Harn isoliert sowie auch mit einer Modifikation von Stahres Reaktion der Zitronensäuregehalt des Harns in mehreren Fällen bestimmt. Fasold hat bei gemischter und bei vegetabilischer Kost Werte zwischen 0·237 und 0·768 g gefunden. Bei extremer Fleischdiät ist die Zitronensäuremenge unter der unteren Empfindlichkeitsgrenze der Methode, die er zu 0·32 g per Liter angibt, gelegen. (Die von ihm mitgeteilten Werte sollten also eigentlich mit dieser Zahl erhöht werden.)

Im Schweiß von Homo fand Leake (1922—1923) 4·9 bis 11·7 mg Zitronensäure per Liter. Er arbeitete hierbei teils mit einer Stahre-Reaktionsmodifikation, teils mit der von Salant und Wise (1916) ausgearbeiteten Methode. Scherstén (1930) konnte bei Versuchen mit Thunbergs Methode diese Resultate nicht bestätigen, sondern hielt es für wahrscheinlich, daß der Zitronensäuregehalt des Schweißes nur 1 bis 2 mg per Liter beträgt.

In der Zerebrospinalflüssigkeit von Homo fand Benni (1930) beim Arbeiten mit Thunbergs Methode $< 0{\cdot}030$ bis 0·150 g Zitronensäure per Liter. Beim gleichen Verfahren trafen Nitzescu und Georgescu (1930) 0·075 bis 0·080 bei Homo und 0·090 bis 0·100 g per Liter beim Hund.

Grönwall (1930) untersuchte mit Thunbergs Methode das Kammerwasser von Kaninchenaugen und fand darin ungefähr 0·050 g Zitronensäure per Liter. Das gleiche Resultat wurde beim Untersuchen des Kammerwassers von Schweineaugen erhalten. Im Kammerwasser von Kuhaugen wurde kein sicher positives Resultat erreicht, im Kammerwasser vom Kalb aber möglicherweise ein schwaches. Im Kammerwasser eines auf Grund eines frischen Melanosarkoms enukleierten Menschenauges traf er einen Zitronensäuregehalt von wenigstens 0·030 g per Liter. Nitzescu und Georgescu (1930) haben analoge Untersuchungen

gemacht und im Kammerwasser vom Ochs in einem Fall nichts Sicheres, in einem anderen 0·012 g per Liter, sowie in einem Fall von Hypertension beim Menschen in der Punktatflüssigkeit eine 0·040 g per Liter entsprechende Menge gefunden.

Scherstén (1929) hat mit Thunbergs Methode das Sperma von Homo und das Geschlechtsdrüsensekret vom Kaninchen und Schwein untersucht. Im Homosperma fand er 1·8 bis 4·1 Promille Zitronensäure. Das Geschlechtsdrüsensekret des Kaninchens zeigte einen Zitronensäuregehalt von 2·5 bis 3·0 Promille in der Epididymis und im Ductus deferens, und 1·0 bis 1·8 Promille in der Vesicula seminalis. Für das Schwein erhielt er folgende Werte: Vesicula seminalis 6 Promille, Glandulae bulbourethralis 0·06 Promille und Prostata 0·01 Promille.

Für Blutserum wurde von Thunberg (1930) nach Untersuchungen von Östberg angegeben, daß der Wert des Zitronensäuregehaltes desselben unter der Grenze für die Empfindlichkeit der Thunberg-Methode liegt. Spätere Untersuchungen von Benni, Scherstén und Östberg (1930), teilweise mit etwas veränderter Methodik, zeigten einen Zitronensäuregehalt im Serum, der zwischen 0·009 und 0·048 g per Liter variierte.

Nitzescu und Georgescu (1930) haben außerdem mit Thunbergs Methode in der Follikelflüssigkeit der Kuh 0·040 g und in der Amnionflüssigkeit von Homo 0·025 bis 0·027 g Zitronensäure per Liter gefunden. In der letztgenannten Flüssigkeit hat auch Genell (1931) Zitronensäure nachgewiesen, etwa 0·05 g per Liter (Thunbergs Methode).

Daß Zitronensäure bei der Vergärung von Zucker mit Citromyces und speziell mit Aspergillus niger gebildet werden kann, ist von mehreren Untersuchern gezeigt worden, und es ist ein Gegenstand der Diskussion, ob die Zitronensäure hierbei nur als ein Zwischenglied beim Abbau des Zuckers oder als ein Vorstadium bei der Eiweißsynthese aufzufassen ist. (Butkewitsch 1922, 1923, Bernhauer 1926, 1928 A und B. Walker, Subramaniam und Challenger 1927, Bernhauer und Schön 1928, Kostyschew und Tschesnokow 1928 u. a.)

Kap. II. Methoden zur Bestimmung der Zitronensäure.

A. Früher angewandte Methoden.

Im vorstehenden Kapitel sind in Kürze die gebräuchlichsten Analysenmethoden erwähnt worden, die beim Nachweis und der Bestimmung von Zitronensäure in verschiedenem Material des Pflanzen- und Tierreiches zur Verwendung gekommen sind. Außer den Reaktionen von

Stahre und Denigès und ihren Modifikationen gibt es indessen auch mehrere andere.

Gute Zusammenfassungen der älteren Methoden mit genauen kritischen Prüfungen und Nachuntersuchungen sind teils von Bleyler und Schwaibold (1925) mit besonderer Hinsicht auf Milchanalysen, teils von Reichard (1926) für Weinanalysen vorgenommen worden. Sie kommen in der Hauptsache zu übereinstimmenden Ergebnissen, und laut diesen sind folgende Methoden verwendbar: 1. Ausfällung aus alkoholischer Lösung als Kalziumzitrat, das gravimetrisch bestimmt wird; kann nur benutzt werden, wenn andere Stoffe, die vom Ca-Ion in alkoholischer Lösung gefällt werden, abwesend sind (oder wenn derartige zuerst entfernt worden sind). 2. Bestimmung als Azetonquecksilberverbindung (also in Anschluß an Denigès). Sowohl Wöhlk (1902), wie Bleyler und Schwaibold und Reichard betonen, daß Azeton und andere Ketone (wie auch Aldehyde) durch die Bildung von analogen komplexen Hg-Verbindungen das Resultat beeinflussen. Die Methode ist also zu Harnanalysen nicht geeignet. 3. Die Oxydation mit Kaliumpermanganatlösung zu Azeton, das mittels Destillation isoliert und bestimmt wird. Andere Stoffe, die bei der Oxydation zur Bildung von Azeton führen, wirken natürlich als Fehlerquellen (β-Oxybuttersäure, Azetessigsäure).[1] 4. Bestimmung als Pentabromazeton (Stahres Reaktion mit Modifikationen). Nach Wöhlks Untersuchungen (1902) erfolgt die Bildung von Pentabromazeton nicht über Azeton, sondern über Azetondikarbonsäure, weshalb die gegen 3. gerichtete Einwendung hier nicht berechtigt ist.

Laut Untersuchungen von Kunz (1915) geben Wein-, Bernstein-, Äpfel- und Milchsäure sowie Glyzerin eine negative Pentabromazeton-

[1] In diesem Zusammenhang kann erwähnt werden, daß auch umgekehrt die Zitronensäure eine Fehlerquelle bei der Bestimmung der Ketonkörper durch Oxydation und Bestimmung der entstandenen Azetonmenge bildet. In gewöhnlichen Fällen spielt dies für die Harnanalysen eine sehr geringe Rolle, da bei den Gelegenheiten, wo Ketonkörperbestimmungen von Interesse sind (Diabetes-Acidosis und analoge Zustände), der Zitronensäuregehalt in Übereinstimmung mit meinen Untersuchungen sehr niedrig zu sein pflegt. Prinzipiell ist dies jedoch wohl wert zu beachten. Clarke (1928) hat schon betont, daß Na-Zitrat (oder Zitronensäure) als koagulationsverhinderndes Mittel verwendet, eine Fehlerquelle bei der quantitativen Bestimmung von Azetonkörpern im Blute laut van Slyke (1917) bildet. Nach Zufuhr per os von 500 ccm Apfelsinensaft konnte er keine Erhöhung des Gehaltes an Azetonkörpern im Blut oder im Harn beobachten. Wie aus meinen Untersuchungen hervorgeht, braucht indessen eine Zufuhr per os von bis zu 40 g Zitronensäure keine erhöhte Zitronensäureausscheidung zu verursachen, weshalb diese Beobachtung von Clarke nicht die Behauptung widerlegt, daß die Zitronensäure eine Fehlerquelle in obengenannter Weise darstellt.

reaktion. Amberg und Mc Clure (1915) prüften gleichfalls mit negativem Resultat Bernstein-, Milch-, Harn-, β-Oxybutter-, Brenztrauben-, Tricarballyl-, Aconit-, Itacon-, Citracon- und Mesaconsäure sowie Glyzerin und Glykose. Auch Azetessigsäure gab keine positive Reaktion, ihre Anwesenheit schien aber laut Amberg und Mc Clure einen Einfluß auf dieselbe unter gewissen nicht näher klargelegten Umständen zu besitzen. Wenn auch diese Methode betreffs quantitativer Ausbeute durch andere übertroffen werden kann, besitzt sie im Vergleich mit den übrigen den großen Vorteil einer ausgeprägten Spezifizität. Dies wird von Wöhlk (1902), Amberg und Mc Clure (1915), Bleyler und Schwaibold (1925), Reichard (1926) u. a. m. hervorgehoben.

Mit einer von Klein und Werner (1925) angegebenen Mikromethode, die in den oben genannten Untersuchungen unberücksichtigt geblieben ist, können mittels eines besonderen Vakuumsublimationsapparates mehrere organische Säuren auch in äußerst kleinen Mengen nachgewiesen werden. 0·005 mg Zitronensäure geben positiven Ausschlag. Da die Sublimationstemperatur für die verschiedenen Stoffe verschieden ist, kann die Zitronensäure mittels dieser Methode auch in Mischungen nachgewiesen werden. Die Identifizierung der Säure geschieht mikroskopisch auf Grund der typischen Kristallform des Silbersalzes. Ich habe keinen Anlaß gehabt, diese Methode zu prüfen, für andere Zwecke dürfte sie aber sicherlich von Wert sein.

In bezug auf andere Analysenmethoden, die sich also zu Harnuntersuchungen nicht eignen dürften, sei auf Plücker (1930), sowie hinsichtlich der hierher gehörigen rein chemischen Literatur auf das Literaturver- zeichnis bei Bleyler und Schwaibold und Reichard verwiesen.

Von den hier relatierten Methoden läßt sich zusammenfassend sagen, daß, trotz gewisser theoretischer Einwendungen gegen ihre Spezifizität, die mit denselben erhaltenen Resultate betreffs des Vorkommens der Zitronensäure, die im ersten Kapitel zusammengestellt worden sind, wenigstens qualitativ als zuverlässig zu betrachten sein dürften. Bezüglich aller Methoden gilt aber, daß sie ziemlich umständlich sowie zeitraubend sind. (Diese Bemerkung zielt nicht auf die von Bleyler und Schwaibold ausgearbeitete Modifikation; gegen die Verwendung derselben zur Harnanalyse sind jedoch Gründe im Kapitel IIC angeführt.) Meistens erfordern sie ein großes Quantum des zur Analyse vorliegenden Materials, und bei geringer Zitronensäurekonzentration sind besondere Maßnahmen, die sicherlich in vielen Fällen die Genauigkeit herabsetzen, zur Erhöhung derselben vonnöten. Für die Pentabromazetonmethode, die beim Studium der Literatur als die geeignetste erscheint, gilt, daß bei derselben trotz genauesten Arbeitens (Hartmann und Hillig 1927 und 1928) ein

gewisses Quantum Zitronensäure im Verlaufe der Analyse verloren geht. Die Größe dieses Verlustes variiert bei verschiedenen Untersuchern. Fasold (1930 B) gibt ihn für den Harn so groß wie 0,3 g per Liter an, während Hartmann und Hillig für reine Zitronensäurelösungen einen Verlust von etwa 0·034 g per Liter fanden, welcher Wert jedoch beim Arbeiten mit mehr zusammengesetzten Flüssigkeiten erhöht werden mußte. Unter allen Verhältnissen bedingt dies eine untere Empfindlichkeitsgrenze, die oft als ziemlich hoch liegend zu berechnen ist.

Gesagt muß werden, daß eine bequeme und sichere Bestimmungsmethode für Zitronensäure in Mischungen fehlt, und dies dürfte die Ursache sein, weshalb dieser Stoff trotz seines ziemlich reichen Vorkommens in den Flüssigkeiten des Organismus so wenig beachtet worden ist.

B. Thunbergs Methode.

1. Prinzip.

Diese Methode, die von Thunberg (1929 A) angegeben worden ist, gründet sich auf eine (Oxydation oder) Dehydrierung von Zitronensäure mittels eines spezifischen Enzyms, einer Zitrico-Dehydrogenase. Der Verlauf dieser Dehydrierung wird mit Hilfe der Thunbergschen Methylenblaumethode studiert, wobei man aus den Entfärbungszeiten für Serien von Vakuumröhren, deren Inhalt in bestimmter Weise zusammengesetzt worden ist, den Gehalt an Zitronensäure in einer zur Analyse vorliegenden Flüssigkeit ablesen kann.

Methylenblau (Mb) geht bei Reduktion in seine farblose Leukoverbindung über. Bei der Thunbergschen Mb-Methode erfolgt diese Reduktion im Vakuum, damit der Sauerstoff der Luft und in der Flüssigkeit gelöster Sauerstoff nicht an der Reaktion teilnehmen können. Der zur Mb-Reduktion erforderliche Wasserstoff wird durch enzymatische Abspaltung von einer organischen Verbindung erhalten. Diese letztere Verbindung wird in der gebräuchlichen Nomenklatur bei der Mb-Methode als Wasserstoffdonator bezeichnet, und in Übereinstimmung hiermit nennt man das Mb Wasserstoffakzeptor. Bei der Thunbergschen Mb-Methode wird beständig mit diesen drei Komponenten gearbeitet: Enzym (Dehydrogenase), Wasserstoffdonator und Wasserstoffakzeptor. Die Auffassung dieser Reaktion, die sich in dieser Nomenklatur widerspiegelt, ist von Thunberg vorgebracht, wobei die Wielandsche Oxydationstheorie auf dieselbe angewendet worden ist (Thunberg 1917, 1920, 1926, 1928 und 1930).

Die Bedeutung der Konzentration der Donatorsubstanz für die Entfärbungszeit ist von Widmark (1921) und Wishart (1923) für Bernsteinsäure, von Rosling (1924) für β-Oxybuttersäure, sowie von Ahlgren (1925) für Milchsäure, Glutaminsäure und Zitronensäure studiert worden. Sie haben hierbei gefunden, daß, wenn die Konzentrationen von Mb und Enzym konstant gehalten werden, die Entfärbungszeit mit steigender Donatorkonzentration bis auf ein bestimmtes Minimum sinkt, um darauf trotz erhöhter Donatorkonzentration nicht weiter herunterzugehen.

Dieser Umstand ist zur quantitativen Zitronensäureanalyse praktisch ausgenützt worden, nachdem Thunberg ein Enzym mit stark zitronensäureoxydierender Wirkung, eine Zitricodehydrogenase, entdeckt hat, die aus Samen von Cucumis sativus gewonnen wird. Wenn man eine Serie von Vakuumröhren, die alle gleiche Mengen von Mb, sowie gleiche Mengen derselben Enzymlösung enthalten, mit Zitronensäure in gleichmäßig steigenden Mengen versetzt, und, nachdem man evakuiert hat, die Entfärbungszeiten bestimmt, zeigen diese eine gleichmäßige Abnahme, bis, bei einer gewissen Menge Zitronensäure, ein Minimum erhalten wird, unter das die Entfärbungszeit trotz erhöhter Zitronensäuremenge nicht sinkt. Die geringste Zitronensäuremenge, bei der man die kürzeste Entfärbungszeit erhält, variiert mit dem Mb-Gehalt, mit der Art der Enzymlösung sowie mit der Temperatur; werden diese Faktoren aber konstant gehalten, verbleibt auch sie gleich. Bei der Bestimmung des Zitronensäuregehaltes einer Flüssigkeit ermittelt man die kleinste Menge der Flüssigkeit, mit der man in einer Vakuumröhre die Minimientfärbungszeit bekommt, während man in einer gleichzeitigen Serie mit bekannten Zitronensäuremengen die geringste Zitronensäuremenge bestimmt, womit man bei vorhandener Temperatur, Enzym- und Mb-Menge die genannte Minimientfärbungszeit erhält.

2. Ausführung.

„Thunbergs Vakuumröhre“ ist eine am einen Ende zugeschmolzene Röhre aus gehärtetem, farblosen Glas, die ungefähr 10 ccm faßt. Ihr oberes Ende wird durch einen gut eingeschliffenen Glasstopfen verschlossen. An der Grenze zwischen dem oberen und mittleren Drittel hat dieser Glasstopfen ein Loch von 2 bis 3 mm Diameter. In entsprechender Höhe befindet sich an der Vakuumröhre ein Seitenrohr von 4 bis 5 cm Länge. Wird der Glasstopfen so gedreht, daß sein Loch gerade vor das Seitenrohr kommt, kann die Röhre, wenn das Seitenrohr mit einem Vakuumschlauch mit einer Vakuumpumpe verbunden wird, evakuiert und durch darauf folgendes Umdrehen des Glasstopfens luftdicht verschlossen werden. Beim Arbeiten mit der Thunbergschen Zitronensäurebestimmungsmethode, wobei in

der Regel einige Analysen gleichzeitig ausgeführt werden, benötigt man etwa 30 derartige Röhren. Um ein genaues Ablesen der Entfärbungszeit zu ermöglichen, müssen alle Röhren gleiche Länge und gleiches Kaliber haben. Damit der Glasstopfen gut schließt, wird derselbe mit einer dünnen Schicht Hahnfett eingeschmiert. Letzteres hat beispielsweise folgende Zusammensetzung: Adeps lanae, Vaselinum flavum, Cera alba, ana partes, was zusammengeschmolzen wird.

Thermostat: Hierzu wird ein Wasserbehälter von ungefähr folgenden Maßen verwendet: Länge 50 cm, Breite 18 cm, Tiefe 22 cm. Seine vordere Wand besteht aus einer Glasscheibe, durch welche die Röhren betrachtet werden können. Diese werden in einem Metallrahmen mit Löchern von geeigneter Größe eingesetzt sowie unter der Wasseroberfläche dadurch festgehalten, daß die Seitenrohre unter Metallfedern oder unter einen Kautschuckschlauch hineingedreht werden, der über die Oberseite des Rahmens gespannt worden ist. Um eine gleichmäßig diffuse Beleuchtung zu erhalten, wird an der Rückseite und am Boden des Thermostaten eine Milchglasscheibe angebracht. Hinter den Röhren befindet sich eine Lampe mit starkem weißem Licht, die der ganzen Länge des Thermostaten entlang verschoben und bei Bedarf eingeschaltet werden kann. Um die Reaktion durch ihre Wärme und durch ihr Licht nicht unnötigerweise zu beeinflussen, muß diese Lampe stets nur für einen Augenblick angezündet werden.

In meinen ersten Versuchen habe ich eine Thermostattemperatur von 35° verwendet, der große Hauptteil der Untersuchungen ist aber bei Zimmertemperatur ausgeführt. Da Vergleiche zwischen den Entfärbungszeiten verschiedener Versuche nie vorgenommen werden, ist nur erforderlich, daß die Temperatur um alle Röhren im gleichen Versuch konstant gehalten wird. Wenn im Verhältnis zur Umgebung keine nennenswerte Temperaturdifferenz vorhanden ist, hält sich die Temperatur im Wasserbad während der $1^1/_2$ bis höchstens 2 Stunden, die der Versuch dauert, konstant. Außerdem werden immer, wenn der Versuch nicht von sehr kurzer Dauer ist, Kontrollvergleichsröhren mit bekannten Zitronensäuremengen zu verschiedenen Zeitpunkten während des Versuches eingeschoben. Um Temperaturdifferenzen in verschiedenen Teilen des Wasserbades zu vermeiden, genügen die Bewegungen des Wassers, die durch das Anbringen der Röhren und das Schütteln derselben, das ab und zu vorgenommen werden muß, sowie durch das Verschieben der Lampe verursacht werden. Ein Thermoregulator oder ein Umrührer ist daher beim Arbeiten bei Zimmertemperatur nicht erforderlich, und derartige Anordnungen habe ich auch bei der großen Mehrzahl der Untersuchungen nicht benutzt. (Sicherlich kann man auch ohne Wasserbad vollgute Resultate erhalten, wenn man die Röhren in einem Stativ in der Luft eines zugfreien Zimmers nicht allzu nahe einer Wärmequelle anbringt.)

Zubereitung der Enzymlösung: Das Enzym wird aus den Samen von Cucumis sativus gewonnen. Thunberg hat in einer großen Anzahl von Samen systematisch nach der Zitricodehydrogenase gesucht. Er hat

mir mit größter Liebenswürdigkeit sein Verzeichnis hierüber zur Verfügung gestellt.

Acanthaceae:
Acanthus mollis.
Thunbergia alata.

Aceraceae:
Acer platanoides.

Amaranthaceae:
Amaranthus caudatus.

Anacardiaceae:
Anacardium occidentale.
Pistachia vera.
Scinus molle.

Betulaceae:
Corylus avellana.

Chenopodiaceae:
Chenopodium quinoa.

Cruciferae:
Brassica campestris.

Cucurbitaceae:
Benincase cerifera +.
Cucumis melo.
Cucurbita ficifolia.
Cucurbita pepo.
Cyclantera pedata.
Echinocystis lobata +.
Lagenaria vulgaris.
Luffa acutangula.
Luffa macrocarpa.
Momordica balsamina.
Momordica charantia.
Melothria scabra +.
Sicyos angulata.
Trichosanthes colubrina.

Cycadaceae:
Cycas revoluta.

Ericaceae:
Arbutus unedo.

Euphorbiaceae:
Euphorbiaceae lathyrus
Jatropha curcas.
Ricinus communis.
Stillingia sebifera.

Fagaceae:
Castanea vesca.

Ginkgoaceae:
Ginkgoa biloba.

Gramineae:
Andropogon sorghum.
Avena sativa.
Hordeum vulgare.
Pennisetum typhoideum.
Triticum vulgare.
Zea mais.

Hippocastanaceae:
Aesculus hippocastanum.

Juglandaceae:
Juglans regia.

Leguminosae:
Acacia arabica.
Anthyllis vulneraria.
Cajanus indicus.
Caloppgonium munocoides.
Cicer arietinum.
Colutea arborescens.
Crotalaria anagyroides.
Cyamopsis psoraliodes.
Cytisus alpinus.
Ervum lens.
Faba vulgaris.
Indigofera tinctoria.
Lathyrus tingitanus.
Lens esculentum.
Lupinus angustifolius.
Lupinus luteus.
Medicago sativa.
Mucuma utilis.
Onobrychis sativa.
Phaseolus aconitifolius.
— lunatus.
— multiflorus albus.
— mungo.
— radiatus.
— vulgaris.
Pisum sativum.
— — hortense.
— — sackaratum.
Poinciana regia.
Tamarindus indica.
Tetragonolobus siliquosus.

Linaceae:
Linum usitatissimum.

Malvaceae:
Hibiscus esculentum.
Malva crispa.

Meliaceae:
Melia azedarach.

Moraceae:
Cannabis sativa.

Moringaceae:
Moringa pterigosperma.

Oleaceae:
Olea europaea.

Pedaliaceae:
Sesamum indicum.
— orientale.

Phytolaccaceae:
Phytolacca decandra.

Pinaceae:
Pinus cembra.
— pinea.

Polemoniaceae:
Collomia coccinea.

Polygonaceae:
Fagopyrum esculentum

Rhamnaceae:
Impatiens royii.

Rosaceae:
Prunus communis.
— serotina.
Pyrus malus.
Rosa pomifera.
— rugosa.

Rubiaceae:
Vangueria edulis.

Rutaceae:
Citrus aurantium.
Dictamnus fraxinella.

Sapindaceae:
Cardiospermum halicacabum.
Koelreuteria paniculata.

Sapotaceae:
Achras sapota.
Mimusops balata.

Scrophulariaceae:
Alonsoa varcevieczi.

Solanaceae:
Datura laevis.
— stramonium.

Tiliaceae:
Corchorus capsularis.

Durch ein + sind solche Samen gekennzeichnet worden, deren Phosphatextrakt auf die Entfärbung bei Gegenwart von Zitronensäure im Mb-Versuch beschleunigend wirkt. Die meisten der übrigen wirken hemmend. Nur Echinocystis lobata dürfte Cucumis sativus in der Zitronensäurebestimmungsmethode ersetzen können. Die Spontanentfärbungszeit für Echinocystis bei Gegenwart von nur Mb und Extrakt in der Vakuumröhre ist sehr lang, noch nach mehreren Stunden ist eine deutliche Farbe vorhanden. Für Cucumis ist sie kürzer, je nach der Beschaffenheit der Samen, der Mb-Menge und der Temperatur, schwankt sie zwischen $^1/_2$ und 1 bis 2 Stunden. Eine längere Spontanentfärbungszeit ist unter gewissen Umständen erwünscht. Da die Echinocystis-Samen größer als die Cucumis-Samen sind, nimmt das Ausschälen der erstgenannten weniger Zeit in Anspruch. Echinocystis scheint demnach sogar gewisse Vorteile gegenüber Cucumis sativus darzubieten. Ein Nachteil ist aber der etwas höhere Preis.

Ich habe stets Samen einer in Schweden häufig gebauten Gurkensorte, Västerås druvgurka, verwendet. (Laut persönlicher Mitteilung von Thunberg geben nicht alle Gurkensorten verwendbares Enzym. Bei seinen Demonstrationen der Methode in U. S. A. war das Beschaffen von geeigneten Gurkensamen bisweilen mit Schwierigkeiten verknüpft.) Nur gut getrocknete Samen werden verwendet. Die Gurkensamen müssen von der Schale befreit werden, da die Schalensubstaz das Enzym inaktiviert. Dies kann entweder mit einem feinen Messer oder einer feinen Schere gemacht werden oder dadurch geschehen, daß man die Seitenränder des Samens mit einer kleinen Zange zusammenpreßt, wobei die Schale birstet und der Samenkern gewöhnlich zerquetscht wird. Die derart zerquetschten Samen werden in einer Schachtel aufgesammelt, in der sie kräftig geschüttelt werden, und aus welcher dann bei mäßig starkem Hineinblasen die leichteren Schalen herausfliegen, während die Kernteilchen zurückbleiben (Scherstén 1929). Man wiegt eine bestimmte Menge Kernsubstanz ab. 3 g genügen zu einer Serie von 18 Röhren, 4 g zu ungefähr 24 Röhren usw. Die Kerne werden in einer Reibschale aus Porzellan gut zerrieben, die fünffache Menge 0·87prozent. Lösung von sekundärem Kaliumphosphat (K_2HPO_4) zugesetzt, die Mischung gut ausgerührt und unter wiederholtem Umrühren 30 Min. stehen gelassen. Darauf wird die Mischung in eine Zentrifugenröhre gebracht und 20 Min. zentrifugiert. Hierbei werden drei Schichten gebildet; eine obere sahnenähnliche, eine mittlere dünnflüssige sowie eine untere aus festen Bestandteilen. Durch vorsichtiges Neigen der Röhre löst sich die obere Schicht an einer Stelle von der Wand los, während sie im übrigen als eine zusammenhängende Membran daran haftet, wobei die Mittelschicht in ein Proberohr abgegossen werden kann. Wenn sich von der oberen Schicht Teile loslösen, können sie mittels eines Glasstabes am Mitfolgen gehindert werden. Die Mittelschicht, die die verwendbare Enzymlösung darstellt, wird im Verlaufe des Versuches in dem mit Kork verschlossenen Proberohr verwahrt, das durch einen durchbohrten Kork in ein mit schwarzem Papier gut umgebenes, Eiswasser

enthaltendes Gefäß gesetzt wird. Auf diese Weise vermindert man die von Wärme und Licht ausgeübte enzyminaktivierende Wirkung. Trotzdem verliert die Enzymlösung im Verlaufe des Versuches etwas an Effektivität, welcher Umstand das Einschieben von Kontrollröhren mit bekannten Zitronensäuremengen zu verschiedenen Zeitpunkten des Versuches, insofern dieser nicht von sehr kurzer Dauer ist, notwendig macht.

Methylenblau: „Methylenblau medicinale Merck" ist benutzt worden. Von diesem bereitet man sich eine Stammlösung 1 : 5000, die bei Verwahrung im Dunkeln monatelang haltbar ist. Die Menge Mb, die jeder Röhre eines Versuches zugesetzt wird, wird so gewählt, daß man bei der herrschenden Temperatur eine zweckmäßige Minimientfärbungszeit erhält. Ich habe in der großen Mehrzahl meiner Harnversuche 0·3 ccm einer Mb-Lösung 1 : 60000 verwendet, d. h. eine Menge von 5 Mikrogramm, mit der die Minimientfärbungszeit bei 20° 5 bis 7 Min. beträgt. Eine derartige Entfärbungszeit gestattet ein exaktes Ablesen auf $^1/_2$ Min., und gleichzeitig dauert der Versuch nicht unnötig lange. Da Vergleichsserien mit bekannten Mb-Mengen beständig ausgeführt werden, hat die absolute Menge Mb natürlich keine Bedeutung, wenn sie nur in allen Röhren gleich ist.

Zitronensäure: Ich habe Acid. citr. albiss. cryst. pro analysi Merck verwendet, d. h. Zitronensäure mit 1 Mol. Kristallwasser. Da die Methode stets auf einem Vergleich mit einer dargestellten Zitronensäurelösung baut, ist es natürlich von der größten Wichtigkeit, daß diese exakt zubereitet wird, und daß hierzu ein reines Präparat verwendet wird. Mit der Präzisionswaage werden 5 mg Zitronensäure abgewogen und dann in einem 100 ccm-Meßkolben, der geeicht ist, zu 100 ccm gelöst. Die Lösung muß jeden Tag neu zubereitet werden, da sie sich nicht konstant hält (Kickinger, 1922, hat gezeigt, daß der Zitronensäuregehalt der Milch zufolge Bakterienwirkung schnell abnimmt). Von dieser Lösung werden eine Serie von Verdünnungen hergestellt, so daß man zu den Vakuumröhren in bequemer Weise die gewünschten Mengen Zitronensäure hinzufügen kann. Ich habe folgendes Verfahren benutzt:

Mischungsrohr Nr.	Zitronensäurelösung 1 : 20000	Aq. dest.	0,2 ccm der Mischung enthalten
1	0·2 ccm	1·8 ccm	1 Mikrogr. Zitronensäure
2	0·4 „	1·6 „	2 „ „
3	0·6 „	1·4 „	3 „ „
4	0·8 „	1·2 „	4 „ „
5	1·0 „	1·0 „	5 „ „
6	1·2 „	0·8 „	6 „ „
7	1·4 „	0·6 „	7 „ „
8	1·6 „	0·4 „	8 „ „
9	1·8 „	0·2 „	9 „ „

Was man mit den Kontrollröhren feststellen will, ist die geringste Menge Zitronensäure, mit der man unter den herrschenden Bedingungen die kürzeste Entfärbungszeit erhält; man muß sich also davon überzeugen, daß eine kleinere Menge eine längere Entfärbungszeit gibt, und eine größere keine kürzere.

Wenn man in einer Serie von Vakuumröhren in jeder Röhre 0·5 ccm Enzymlösung und 0·3 ccm Mb-Lösung 1 : 60000, sowie steigende Mengen Zitronensäure hat, erhält man bei einer Temp. von 20° so gut wie immer die Minimientfärbungszeit bei einer Menge von 4 oder 5 Mikrogr. Zitronensäure, sowie bei darüberliegenden Mengen. In meinen 291 Versuchen auf der Medizinischen Klinik während der Zeit vom 1. 5. 1929 bis 31. 7. 1930 habe ich die Minimientfärbungszeit 134 mal bei 4 Mikrogr., 134 mal bei 5 Mikrogr., sowie 23 mal bei 6 Mikrogr. gefunden. In diesen letzteren Fällen war der Unterschied in der Entfärbungszeit für 5 Mikrogr. und für 6 Mikrogr. äußerst gering, häufig stellte sich die letztere nur $^1{}_2$ Min. kürzer heraus.[1]

Auf Grund dieser Regelmäßigkeit ist es nicht notwendig, stets eine so lange Serie von Kontrollröhren wie die oben genannte mitzuhaben; man kann sich mit weniger begnügen (z. B. mit den Mischungsröhren Nr. 3, 4, 5 und 6 für einen Extrakt, wie er mir zur Verfügung gestanden hat).

Alle diese Zahlen beziehen sich auf die Werte, die zu Beginn des Versuches erhalten werden. Im Verlauf des Versuches verschlechtert sich der Extrakt, was eine bemerkbare Verlängerung der Entfärbungszeit zur Folge hat. Diese Verlängerung pflegt besonders stark die Entfärbungszeit der Röhre mit 4 Mikrogr. zu betreffen, oft stärker als die der 5-Röhre, was mit anderen Worten sagen will, daß, wenn die Minimizeit anfangs bei 4 gelegen hat, sie später bei 5 zu liegen kommt. Zwischen 5 und 6 tritt gewöhnlich keine oder nur eine geringe Differenz ein. Diese Labilität des Extraktes macht vielen Kummer beim Arbeiten mit der Methode und

[1] In meinen ersten Versuchen, die im Physiologischen Institut ausgeführt worden sind, verwendete ich anfangs eine Mb-Menge von 10 Mikrogr. (0.3 ccm einer Lösung 1 : 30000). 38 solche Versuche wurden gemacht und in diesen verteilten sich die Minimientfärbungszeiten in folgender Weise:

Minimientfärbungszeit bei Mikrogr. Zitronensäure	6	7.5	9	10.5	12
Anzahl Versuche	1	20	13	3	1

Bei weiteren Versuchen im Physiologischen Institut, wobei, gleichwie später in der Medizinischen Klinik, nur 5 Mikrogr. Mb jeder Vakuumröhre zugesetzt, aber eine andere Sendung Gurkensamen benutzt wurden, wurde die Minimientfärbungszeit bei anderen Zitronensäuremengen als oben erhalten:

Zitronensäure Mikrogr. . . .	4	5	6	7
Anzahl Versuche	4	12	29	23

verlangt notwendig die Einfuhr neuer Kontrollröhren, sobald der Versuch länger als ungefähr 20 Min. dauert. Es scheint, als ob die Effektverminderung des Extraktes zuweilen während der Zeit unmittelbar nach dem Zentrifugieren am größten sei. Deshalb dürfte es zweckmäßig sein, nicht unmittelbar mit der Untersuchung zu beginnen, sondern den Extrakt zuerst 5 bis 10 Minuten stehen zu lassen. Im Verlaufe des Versuches darf dagegen keine Zeit verschwendet werden.

Der Harn wird in Gefäßen aufgesammelt, die etwas Toluol, zwecks Hemmung des Bakterienwachstums, enthalten. Es hat sich bei Prüfung herausgestellt, daß Toluol die Reaktion nicht beeinflußt, auch nicht in ziemlich hohen Konzentrationen. Die Probe wird am besten in einem Eisschrank verwahrt, und vor Beginn der Analyse aufgekocht, damit Bakterien oder andere enzymatische Oxydations-Reduktionssysteme darin die Reaktion nicht stören können. Dieses Aufkochen darf nur ganz kurz dauern, denn bei längerem Kochen wird die Zitronensäure wenigstens teilweise zerstört. Dies ist in bezug auf die Milch von Dieudonné (1903) und von Obermaier (1904) gezeigt worden. Beide fanden, daß beim Kochen der Milch in 5 Min. der Zitronensäuregehalt um etwa 30 Proz. abnahm. Obermaier beobachtete, daß der Verlust kleiner ausfiel, wenn das Kochen am Wasserbad anstatt über freier Flamme vorgenommen wurde. Daß ein Aufkochen notwendig ist, geht daraus hervor, daß man mit ungekochten Harnproben Entfärbungszeiten erhalten kann, die unter der Minimizeit der Zitronensäureserie liegen, wobei also andere Prozesse als die Zitronensäuredehydrierung mit dem Cucumus-Enzym dem Mb den Wasserstoff entzogen haben müssen. In derartigen Fällen tritt die schnelle Entfärbung nach dem Aufkochen des Harns nicht ein.

Vom Harn habe ich niemals mehr als 200 cmm pro Vakuumröhre verwendet, da bei geringem Zitronensäuregehalt der störende Einfluß der übrigen Harnbestandteile so groß wird, daß das Resultat hierdurch verschoben wird. Dieses Verhalten soll im weiteren genauer nachgewiesen werden. Um den annähernden Zitronensäuregehalt zu ermitteln, kann man anfangs einige Entfärbungsversuche mit stark variierenden Harnmengen in den Vakuumröhren, beispielsweise 10, 60, 120 und 200 cmm, ausführen. Nachdem man auf diese Weise eine Auffassung davon erhalten hat, zwischen welchen Grenzen man zu suchen hat, bestimmt man genauer die geringste Menge Harn, mit der man die kürzeste Entfärbungszeit erhält. Ich habe hierbei die Vakuumröhren mit Harnmengen versetzt, die laut folgendem Schema variiert haben: 1, 1·5, 2, 2·5, 3, 3·5, 4, 4·5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 21, 24, 27, 30, 32, 36, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200 cmm.

Zur Erhaltung dieser Mengen werden zuerst Verdünnungen in der Weise vorgenommen, daß die gewünschte Harnquantität in 0·2 ccm vorhanden ist. Hierdurch wird das Volumen in den Vakuumröhren stets dasselbe, was ein genaues Beurteilen der Entfärbungszeit erleichtert.

Verdünnungsschema.

	ccm	Aqua destillata ccm	Gehalt in 0·2 ccm cmm
Harn	1·8	0·2	180
„	1·6	0·4	160
„	1·4	0·6	140
„	1·2	0·8	120
Becher A. Harn	5·0	5·0	100
Aus dem Becher A.	1·8	0·2	90
„ „ „ „	1·6	0·4	80
„ „ „ „	1·4	0·6	70
„ „ „ „	1·2	0·8	60
Becher B. Harn	5·0	15·0	50
Aus dem Becher B.	1·8	0·2	45
Becher C. Harn	2·0	8·0	40
Aus dem Becher C.	1·8	0·2	36
„ „ „ „	1·6	0·4	32
Becher D. Harn	3·0	17·0	30
Aus dem Becher D.	1·8	0·2	27
„ „ „ „	1·6	0·4	24
„ „ „ „	1·4	0·6	21
Becher E. Harn	1·0	9·0	20
Aus dem Becher E.	1·8	0·2	18
„ „ „ „	1·6	0·4	16
„ „ „ „	1·4	0·6	14
„ „ „ „	1·2	0·8	12
Becher F. Harn	1·0	19·0	10
Aus dem Becher F.	1·8	0·2	9
„ „ „ „	1·6	0·4	8
„ „ „ „	1·4	0·6	7
„ „ „ „	1·2	0·8	6
„ „ „ „	1·0	1·0	5
Becher G. Harn	1·0	39·0	5
Aus dem Becher G.	1·8	0·2	4·5
„ „ „ „	1·6	0·4	4
„ „ „ „	1·4	0·6	3·5
„ „ „ „	1·2	0·8	3
„ „ „ „	1·0	1·0	2·5
„ „ „ „	0·8	1·2	2
„ „ „ „	0·6	1·4	1·5
„ „ „ „	0·4	1·6	1

Durch eine Division der Anzahl Mikrogramme Zitronensäure in der Röhre der Zitronensäureserie, die mit dem kleinsten Zitronensäuregehalt die kürzeste Entfärbungszeit gibt, mit der Anzahl cmm Harn in der entsprechenden Röhre der Harnserie bekommt man den Gehalt an Zitronensäure im untersuchten Harn in Promille ausgedrückt. Zwei Dezimalen können zweckmäßig mit angeführt werden. Erwähnt soll werden, daß das erhaltene Resultat Zitronensäure + 1 Mol. Kristallwasser ent-

spricht. Bei allen Gelegenheiten, wo man mit wasserfreier Zitronensäure rechnen soll, muß also 8·75 Proz. des Wertes abgezogen werden.

Wenn man die Entfärbungszeiten in einer Serie von Vakuumröhren mit steigendem Zitronensäuregehalt graphisch registriert und die Zitronensäuremengen, in Mikrogramm ausgedrückt, auf der X-Achse, sowie die Zeit in Minuten auf der Y-Achse aufträgt, erhält man eine Kurve, die an der Y-Achse, beim Zitronensäuregehalt 0 (der sog. Spontanentfärbungszeit, wo nur Mb und Enzym vorhanden sind) am höchsten ist. Die Kurve sinkt nach rechts und geht in eine gerade horizontale Linie über, wenn die minimale Entfärbungszeit erreicht ist. Man hat also mit dem Punkt,

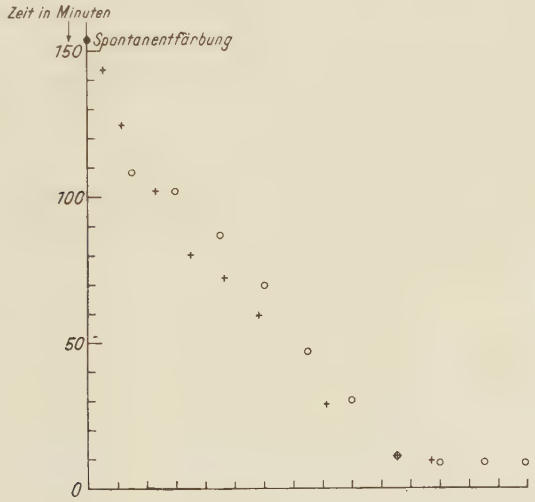


Fig. 1.

wo die Kurve in die horizontale Linie übergeht, zu rechnen. Dieser Punkt kann der Kürze halber als „Knick" bezeichnet werden. Eine Bedingung für eine exakte Zitronensäurebestimmung ist, daß die beiden Kurven einen deutlichen solchen Knick aufweisen, sowohl die Kurve für die reine Zitronensäurelösung wie die Kurve für den Harn. Wenn man davon ausgeht, daß die Harnmenge beim Knickpunkt der Harnkurve jene Zitronensäuremenge enthält, die der Knickpunkt auf der reinen Zitronensäurekurve angibt und die Harnkurve auf die gleiche Skala wie die reine Zitronensäurekurve umrechnet, sollte man genau die gleiche Kurve erhalten. So verhält es sich auch in der Mehrzahl der Fälle, wo dies geprüft worden ist, und dieser Umstand spricht deutlich dafür, daß der wirksame Bestandteil im Harn Zitronensäure ist (Fig. 1). Es kommt indessen auch vor, daß jene Teile der Kurve, die links des Knickes liegen,

nicht gleich sind. Dies hängt mit der Hemmungswirkung anderer Harnbestandteile zusammen, von welchem Verhältnis in der nächstfolgenden Abteilung näher gesprochen werden soll.

3. Kritik.

Ist diese Reaktion spezifisch für Zitronensäure, oder können auch andere Stoffe die Entfärbung im Vergleich mit der Spontanentfärbungszeit beschleunigen und so die Anwesenheit von Zitronensäure vortäuschen?

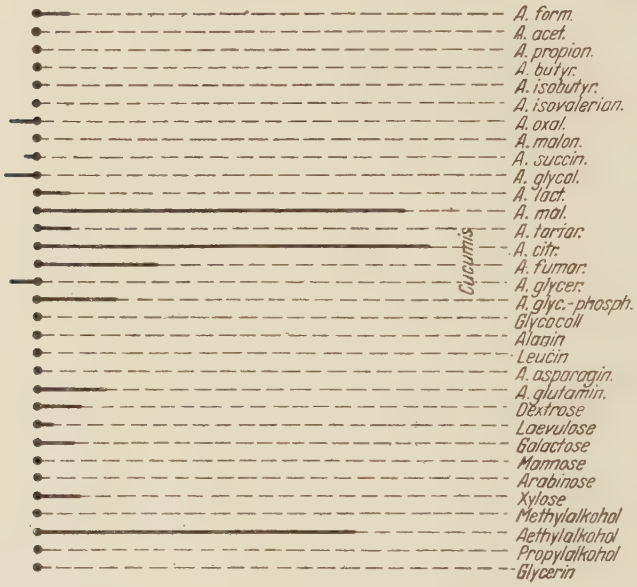


Fig. 2.

Thunberg (1929 A) hat, um diese Frage beantworten zu können, die Wirkungsintensität mehrerer Stoffe auf das System Mb-Gurkensamenextrakt untersucht. Die Wirkungsintensität „J" berechnet er mit folgender Formel: $J = 100 \left(\frac{1}{A} - \frac{1}{B} \right)$. A ist die Entfärbungszeit bei Gegenwart jenes Stoffes, dessen Wirkungsintensität bestimmt werden soll, und B ist die Spontanentfärbungszeit. Wirkt der in Frage stehende Stoff auf die Entfärbung beschleunigend, auf die Entfärbungsgeschwindigkeit steigernd, wird J positiv. Wirkt aber der Stoff auf die Entfärbung verzögernd, auf die Entfärbungsgeschwindigkeit hemmend, wird J negativ. Hier wird eine graphische Darstellung der Untersuchungsergebnisse Thunbergs wieder-

gegeben. Die Längen der Tuschlinien sind den J-Werten proportional, die positiven gehen nach rechts, die negativen nach links.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß außer Zitronensäure auch Äpfelsäure und Äthylalkohol kräftige Donatorsubstanzen sind. Indessen vermögen diese Stoffe die Entfärbungszeit auf das gleiche niedrige Niveau, das mit Zitronensäure erreicht wird, nicht zu senken, was ja aus den oben registrierten J-Werten hervorgeht. Die Minimientfärbungszeit für Äpfelsäure liegt ein paar Minuten höher als die für Zitronensäure, und für Äthylalkohol liegt sie noch höher. Wenn man demnach stets fordert, daß der Knick in der Entfärbungskurve in gleich niedrigem Niveau liegen soll, wie in der Kurve der reinen Zitronensäurelösung (mit gleicher Enzymlösung), um in einer Flüssigkeit von unbekannter Zusammensetzung das Vorkommen von Zitronensäure beweisen zu können, so werden die Fehlerquellen Äpfelsäure und Äthylalkohol vermieden. In obenstehender Tabelle sind die größten J-Werte, die mit den verschiedenen Substanzen überhaupt erhalten werden können, registriert, ohne daß auf die hierzu erforderliche Menge der Substanz Rücksicht genommen worden ist. Aber in diesen Mengenverhältnissen liegt auch ein bedeutungsvoller Unterschied zwischen der Zitronensäure und den übrigen Stoffen. Von Äpfelsäure ist zur Erreichung dieser Minimientfärbungszeit eine 250mal größere Menge erforderlich als von Zitronensäure. Die kleinste Menge Äpfelsäure im Harn, die bei den von mir benutzten Versuchsbedingungen die Entfärbungszeit auf die für die Äpfelsäure minimale senken können sollte, wäre also etwa 5 g pro Liter (einer Zitronensäuremenge von 20 mg entsprechend), und um eine Reaktion ähnlich der bei einem mittleren Gehalt von 0·5 Promille Zitronensäure zu erhalten, würden 125 g Äpfelsäure pro Liter erforderlich sein. Für Äthylalkohol sind die Zahlen noch höher. Sämtliche in der oben angeführten Tabelle aufgenommene Substanzen können als Fehlerquellen eliminiert werden.

Wie Thunberg später (1929 B) gezeigt hat, besitzt indessen auch die Hexosediphosphorsäure eine große Wirkungsintensität auf das System Mb-Gurkensamenextrakt, und das auch, wenn diese Substanz in sehr geringer Menge anwesend ist. Hexosediphosphorsäure mag also bei der Verwendung dieser Methode zur Zitronensäurebestimmung eine Fehlerquelle bilden. Mit den meisten Gurkensamenextrakten wird indessen die Minimientfärbungszeit für Hexosediphosphorsäure noch kürzer als für Zitronensäure, der Knick der Kurve kommt demnach in noch niedrigerem Niveau zu liegen als in der Entfärbungskurve der Kontrollserie mit Zitronensäure. Ein solcher Umstand muß also einen Verdacht auf die Anwesenheit eines anderen Stoffes als Zitronensäure erwecken. Die Anwesenheit von Hexosediphosphorsäure kann indessen mit einem anderen von Thunberg angegebenen System, Mb-Apfelsinenkernextrakt,

leicht nachgewiesen werden. Im Apfelsinenkernextrakt gibt es gleichwie im Gurkensamenextrakt ein Enzym mit dem Vermögen, den Wasserstoff der Hexosediphosphorsäure zu aktivieren, und im System Mb-Apfelsinenkernextrakt haben auch geringe Mengen von Hexosediphosphorsäure eine stark steigernde Wirkung auf die Entfärbungsgeschwindigkeit. Die Anwesenheit von Hexosediphosphorsäure in einer Lösung ist ausgeschlossen, wenn sie keine derartige Wirkung besitzt. Bei wiederholten Untersuchungen von Harn in dieser Hinsicht sind stets negative Resultate erhalten worden. Der Harn wirkt niemals steigernd, meistens deutlich hemmend auf die Entfärbungsgeschwindigkeit im System Mb-Apfelsinenkernextrakt; man hat demnach die Hexosediphosphorsäure im Harn nicht nachweisen können.

Da die vorliegende Arbeit hauptsächlich auf Harnuntersuchungen eingestellt ist, habe ich meine Aufmerksamkeit namentlich auf die Wirkung der bekannten Harnbestandteile auf die Entfärbungszeit im System Mb-Gurkensamenextrakt gerichtet. Harnstoff, Benzoesäure, Milchsäure und Azeton haben keine oder eine verzögernde Wirkung. Einige besitzen einen etwas beschleunigenden Einfluß mit den folgenden für J berechneten Werten: Harnsäure 0·20, Kreatinin 0·58, Oxalsäure 0·14, Hippursäure 0·37, Inosit 0·27. Zum Vergleich kann erwähnt werden, daß bei den gewöhnlichen Versuchsbedingungen der Wert für J für Zitronensäure irgendwo zwischen 11 und 17 zu liegen pflegt und von Versuch zu Versuch mit den verschiedenen Gurkensamenextrakten etwas wechselt.

Für jeden Extrakt muß die Spontanentfärbungszeit festgestellt werden, so daß man stets eine Sicherheit dafür hat, daß die bei Zitronensäurezusatz erhaltenen Werte in der für Zitronensäure charakteristischen Weise wesentlich tiefer als dieselbe liegen.

Man hat also keinen Stoff finden können, der mit dem System Mb-Gurkensamenextrakt in gleicher Weise wie die Zitronensäure reagiert, d. h. eine Kurve mit einem Knick in dem Niveau gibt, das bei jedem besonderen Gurkensamenextrakt für die Kontrollserie mit Zitronensäure typisch ist. Daher kann man diese Reaktion mit Sicherheit zum qualitativen Nachweis von Zitronensäure in einer Flüssigkeit unbekannter Zusammensetzung verwenden, wenn man an der Forderung festhält, daß in der Entfärbungskurve ein Knick im gleichen Niveau wie in der gleichzeitig untersuchten bekannten Zitronensäureserie erhalten wird. Eine weitere kräftige Stütze für diese Behauptung bilden die übereinstimmenden Resultate, die bei Untersuchungen des Zitronensäuregehaltes des Harns mit dieser und anderen Methoden erhalten worden sind, bezüglich der an anderer Stelle eingehender berichtet werden soll.

Diese Prüfung der gewöhnlicheren Bestandteile des Harns erhebt natürlich keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Die quantitativ am

bedeutungsvollsten dürften jedoch berücksichtigt worden sein. Im Gedanken an den kräftigen Effekt, der mit kleinen Harnquantitäten in dieser Reaktion erhalten worden ist, muß gesagt werden, daß es unwahrscheinlich ist, daß ein Bestandteil, der in geringer Konzentration im Harn anwesend ist, die Ursache dieser spezifischen Wirkung sein könnte.

Ein direktes Gutheißen der quantitativen Ergebnisse, die durch Berechnung in oben angegebener Weise erhalten werden, ist indessen nicht unter allen Umständen möglich. Mehrere der übrigen Harnbestandteile hemmen nämlich, wenn sie in genügender Konzentration in der Vakuumröhre vorhanden sind, die Wirkungsintensität der Zitronensäure. Eine solche Hemmung zeigt sich deutlich in der Kurve, die bei der graphischen Registrierung der Entfärbungszeiten in oben angegebener Weise erhalten wird, indem die Kurve nach dem Erreichen der Minimientfärbungszeit wieder langsam nach rechts ansteigt, d. h. die Entfärbungszeit steigt bei den höheren Harnkonzentrationen. Als Beispiel hierfür wird folgende Serie angeführt (M. N. 18. 8. 1929).

Zitronensäure Mikrogr. . . .	0	3	4	5	6	
Entfärbungszeit Min. . . .	36·5	10	8	6	6	
Harn cmm	16	18	20	40	100	200
Entfärbungszeit Min. . . .	7·5	6	6	6	9·5	14

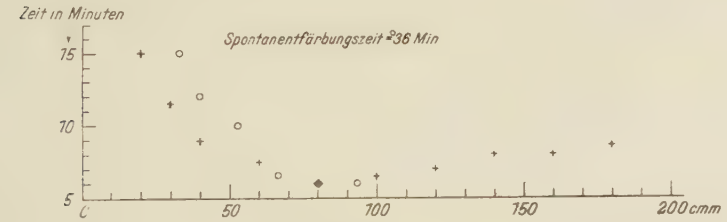


Fig. 3.

Die Kurve in Fig. 3 zeigt auch eine derartige Hemmungswirkung der höheren Harnkonzentrationen, die mit + bezeichneten Werte. Die Kurve der Kontrollserie mit bekannten Zitronensäuremengen ist auch eingezeichnet, die mit ○ bezeichneten Werte. In gewöhnlicher Weise berechnet, so daß die Menge Zitronensäure in beiden Serien in dem Punkte, wo die Minimientfärbungszeit erreicht wird, dieselbe ist, sind die Kurven in gleicher Skala gezeichnet worden.

Man darf also auf Grund einer einzelnen Vakuumröhre, die eine relativ große Harnmenge enthält, und deren Entfärbungszeit die Minimientfärbungszeit mit einigen Minuten übersteigt, nicht schließen, daß Zitronensäure nur in unsicher nachweisbarer, sehr kleiner Menge vorhanden ist. Die Möglichkeit findet sich vor, daß eine kleinere Harnmenge in der Minimizeit entfärben kann. Die Hemmung der Entfärbung

durch den Harn mag auch in solchem Harn beobachtet werden, der bei der Untersuchung keine oder eine äußerst geringe Senkung der Entfärbungszeit im Verhältnis zu der spontanen gezeigt hat. Wenn man nämlich in einem solchen Harn, der also keine oder eine äußerst geringe Menge Zitronensäure enthalten dürfte, eine abgewogene Menge Zitronensäure löst, und dann in gebräuchlicher Weise analysiert, so zeigt es sich nicht selten, daß man nicht das berechnete, sondern ein niedrigeres Resultat erhält. Der Harn besitzt in einem solchen Fall das Vermögen, den Knick in der Kurve nach rechts zu verschieben, so daß die Minimientfärbungszeit in der Harnlösung erst bei einem höheren Zitronensäuregehalt als in der reinen Zitronensäurelösung erhalten wird.

O. K. 27. IX. 1929. (Zitronensäurelösung. Harn. 5 mg Zitronensäure gelöst in 100 ccm Harn.)

Zitronensäure Mikrogr. . . .	—	3	4	5	6	—	—	4	5	6	7	8	6
Harn cmm	—	—	—	—	—	100	200	80	100	120	140	160	—
Entfärbungszeit Min. . . .	51	13	9	7	7	62	56	14	$11^1/_2$	10	9	9	8

(Die letzte Röhre zeigt die Verlängerung der Entfärbungszeit als eine Folge des verminderten Effektes der Enzymlösung zufolge der Verwahrung während der kurzen Zeit, die der Versuch dauert.)

Der Harn verursacht also hier teils eine Verschiebung des Knickes nach rechts, teils eine Erhöhung des Minimientfärbungsniveaus.

Noch ein Beispiel wird hierunter angeführt.

M. P. 11. IX. 1929. (Lösungen wie in vorstehendem Versuch.)

Zitronensäure Mikrogr. .	—	3	4	—	—	3	4
Harn cmm	—	—	—	100	200	60	80
Entfärbungszeit Min. . .	49	13	8	35	29	23	18

Auch Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Harnbestandteile auf die Entfärbung zeigen bisweilen eine derartige Hemmung.

NaCl. 5 mg Zitronensäure und 2 g NaCl in 100 ccm Wasser.

Zitronensäure Mikrogr. . .	—	3	4	5	6	3	4	5	6	7
NaCl mg	—	—	—	—	—	1·2	1·6	2·0	2·4	2·8
Entfärbungszeit Min. . .	$37^1/_2$	13	$8^1/_2$	7	7	$16^1/_2$	10	9	$7^1/_2$	$7^1/_2$

Dies würde einem Harn mit 20 g NaCl und 0.05 g Zitronensäure pro Liter entsprechen. Der Knick wird durch die Anwesenheit des Kochsalzes von 5 auf 6 nach rechts verschoben, weshalb der gefundene Wert in einer solchen Flüssigkeit durch eine Erhöhung mit 20 Proz. korrigiert werden muß. (Die Erhöhung der minimalen Entfärbungszeit mit $^1/_2$ Min. kann möglicherweise durch NaCl verursacht werden, mag aber auch auf einer Verschlechterung des Extraktes beruhen.) Wenn man mit einem mittleren Gehalt von 15 g NaCl pro Liter Harn rechnet und den Einfluß dieses Quantums untersucht, findet man folgendes:

Bei einem Zitronensäuregehalt von 0·04 Promille hat man 4 Mikrogr. in 100 ccm. In diesem Vol. gibt es 1·5 mg NaCl.
Bei einem Zitronensäuregehalt von 0·08 Promille hat man 4 Mikrogr. in 50 ccm. In diesem Vol. gibt es 0·75 mg NaCl.
Bei einem Zitronensäuregehalt von 0·12 Promille hat man 4 Mikrogr. in 33·3 ccm. In diesem Vol. gibt es 0·5 mg NaCl.
Bei einem Zitronensäuregehalt von 0·16 Promille hat man 4 Mikrogr. in 25 ccm. In diesem Vol. gibt es 0·375 mg NaCl.
Bei einem Zitronensäuregehalt von 0·24 Promille hat man 4 Mikrogr. in 16·67 ccm. In diesem Vol. gibt es 0·25 mg NaCl.

Zitronensäure Mikrogr.	—	3	4	5	4	4	4	4	4
NaCl mg	—	—	—	—	1·5	0·75	0·5	0·375	0·25
Entfärbungszeit Min.	37	14	9	9	$11^1/_2$	10	9	9	9

Hieraus ergibt sich, daß gewöhnlicher NaCl-Gehalt, 15 g oder weniger pro Liter, das Resultat nur beeinflußt, wenn der Zitronensäuregehalt 0·08 Promille oder weniger beträgt, und daß er auch bei diesen niedrigen Konzentrationen nur eine ziemlich geringe Senkung der Werte verursacht.

Ferner kann aus dieser Serie in analoger Weise berechnet werden, daß, wenn der NaCl-Gehalt $^{20}/_{1000}$ ist, die Resultate bei einem Zitronensäuregehalt von 0·11 Promille und darunter beeinflußt werden: NaCl $^{30}/_{1000}$ bei einem Zitronensäuregehalt von 0·16 Promille usw.

Dem Einfluß der Phosphate ist keine besondere Untersuchung gewidmet worden, da im Gurkensamenextrakt so viel Phosphat vorhanden ist, daß eine geringe Veränderung der Konzentration desselben sich nicht geltend machen dürfte.

Kalziumsalze. Laut v. Krüger in Bangs Lehrbuch der Harnanalyse (1926) beträgt die tägliche Ca-Ausscheidung 0·30 bis 0·37 g CaO. Dieser letztere Wert würde einer Menge von 0·97 g $CaCl_2$ ($+2\,H_2O$; Calcii colridum siccum) entsprechen.

Wenn man mit einer Tagesmenge von 1000 ccm Harn rechnet, würde der normale $CaCl_2$-Gehalt demnach, praktisch genommen, 1 Promille erreichen können. Beim Untersuchen des Einflusses einer solchen Lösung auf die Zitronensäureanalyse erhält man folgende Werte:

Zitronensäure Mikrogr.	—	3	4	5	6	5	5	5	5	5
$CaCl_2$ mg	—	—	—	—	—	0·2	0·1	0·04	0·02	0·01
Entfärbungszeit Min.	37	12	8	7	7	17	$10^1/_2$	$8^1/_2$	7	7

Man findet also, daß, wenn 40 cmm (40 cmm der 1-promilligen $CaCl_2$-Lösung enthalten 0·04 mg $CaCl_2$) oder mehr zugesetzt werden, die Entfärbung im Vergleich mit der Kontrollserie verzögert wird. Da der Knick bei 40 cmm liegt, beträgt der Zitronensäuregehalt, wenn der Knick in der Kontrollserie bei 5 Mikrogr. liegt, $^5/_{40} = 0{\cdot}125$ Promille.

Ein $CaCl_2$-Gehalt von 1 Promille verursacht also, daß die Zitronensäurewerte bei und unter 0·125 Promille zu niedrig ausfallen.

Versuche zur Ermittlung des Grades der Herabpressung dieser niedrigen Werte haben ergeben, daß sie bis zu 33 Proz. erreichen kann.

Röhre Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Zitronensäure Mikrogr.	—	3	4	5	6	4	5	6
$CaCl_2$ mg	—	—	—	—	—	0·03	0·03	0·03
Entfärbungszeit Min.	33	12	7	7	7	$9^1/_2$	$8^1/_2$	7

Röhre Nr.	9	10	11	12	13	14	15
Zitronensäure Mikrogr.	7	5	6	7	8	4	5
$CaCl_2$ mg	0·03	0·04	0·04	0·04	0·04	—	—
Entfärbungszeit Min.	7	9	$7^1/_2$	7	7	$7^1/_2$	7

In den Röhren Nr. 6 bis 9 der Serie wird der Zitronensäurewert $^1/_{30}$ 0·13 erhalten, während der wirkliche Wert $^6/_{30}$ 0·20 beträgt.

Magnesiumsalze. Laut v. Krüger beträgt die tägliche Magnesiumausscheidung im Harn 0·14 bis 0·18 g MgO. 0·18 MgO entsprechen 1·10 g $MgSO_4$ (+ 7 H_2O; Englisches Salz). Versuche mit einer zitronensäurehaltigen derartigen Lösung zeigen, daß nur wenn 0·22 mg, 200 cmm einer derartigen Lösung entsprechend, verwendet werden, eine Beeinflussung der Entfärbung zustandekommt, und daß auch in dieser hohen Konzentration nur eine unbedeutende Verzögerung die Folge ist.

Zitronensäure Mikrogr.	—	3	4	5	6	5	5	5	5	5	5	4	5
$MgSO_4$ mg	—	—	—	—	—	0·22	0·11	0·066	0·044	0·022	0·011	—	—
Entfärbungszeit Min.	33	11	$7^1/_2$	7	7	$7^1/_2$	7	7	7	7	7	$7^1/_2$	7

Ammoniumsalze. Wenn man einen Ammoniumsalzgehalt im Harn 2 g H_4NOH pro Liter entsprechend, annimmt, sowie den Einfluß einer derartigen Lösung prüft, findet man eine deutliche Hemmung.

Ich habe das Sulfat (4 g pro Liter) verwendet.

Zitronensäure Mikrogr.	—	3	4	5	6	3	4	5	3	4	5	
$(H_4N)_2SO_4$	—	—	—	—	—	0·8	0·8	0·8	0·4	0·4	0·4	
Entfärbungszeit Min.	$32^1/_2$	$10^1/_2$	7	6	6	$14^1/_2$	$10^1/_2$	8	$12^1/_2$	9	7	

Zitronensäure Mikrogr.	4	5	4	5	4	5
$(H_4N)_2SO_4$ mg	—	—	0·16	0·16	0·08	0·08
Entfärbungszeit Min.	$8^1/_2$	7	$8^1/_2$	$8^1/_2$	$8^1/_2$	7

In einer solchen Lösung befinden sich 0·16 mg $(H_4N)_2SO_4$ in einer Menge von 40 cmm. Wenn der Knick bei 5 liegt, sollte der Zitronensäuregehalt dort $^5/_{40}$ = 0·125 Promille betragen.

Auch bei 0·12 Promille, und noch stärker bei niedrigerem Zitronensäuregehalt sollte die Anwesenheit von Ammoniumsalz in genannter Konzentration senkend auf die Werte einwirken.

Daß es sich hierbei nicht um eine Sulfatwirkung handelt, ergibt sich aus folgender Untersuchung.

Sulfatwirkung. Laut v. Krüger kommen im Harn 1·5 bis 3 g SO_3 pro Tag vor.

Die letztere Menge würde 6·5 g K_2SO_4 pro Liter berechnet, entsprechen

Zitronensäure Mikrogr.	—	4	5	4	4	4	4
K_2SO_4 mg	—	—	—	1·3	0·65	0·26	0·13
Entfärbungszeit Min.	35	$8^1/_2$	7	$10^1/_2$	$8^1/_2$	$8^1/_2$	$8^1/_2$

Der Knick ist allerdings hier nicht untersucht worden; da aber der Einfluß auf die kleineren Zitronensäuremengen am größten zu sein pflegt,

darf man daraus schließen, daß das Sulfat das Resultat nur dann beeinflußt, wenn relativ große Mengen (200 cmm) verwendet werden müssen, d. h. wenn der Zitronensäuregehalt der Lösung ein sehr geringer ist ($^5/_{200} = 0{\cdot}025$ Promille).

Rhodankalium. Laut v. Krüger enthält der Harn bis zu 35 mg Rhodankalium pro Tag.

Eine Lösung von 35 mg pro Liter wirkt in folgender Weise:

Zitronensäure Mikrogr. . .	4	5	4	4	4	4
Rhodankalium Mikrogr. .	—	—	7	3·5	1·4	0·7
Entfärbungszeit Min. . . .	7	6	8	8	7	7

In bezug auf das Resultat gilt das Gleiche, das oben für die Sulfatwirkung gesagt worden ist. Eine Beeinflussung des Resultates mag stattfinden, wenn etwa 100 cmm oder mehr verwendet werden müssen. d. h. wenn der Zitronensäuregehalt weniger als ungefähr 0·05 Promille beträgt.

Oxalat. Laut v. Krüger enthält die Tagesharnmenge einige wenige, bis zu 20, Milligramm Oxalsäure.

Pro Liter würde die letztere Menge 26 mg neutralem Kaliumoxalat entsprechen. Die Wirkung einer Lösung von 25 mg pro Liter ist untersucht worden.

Zitronensäure Mikrogr. . . .	—	3	4	5	6	4	4	4	4	4
Kaliumoxalat Mikrogr. . . .	—	—	—	—	—	5	2·5	1	0·5	0·25
Entfärbungszeit Min.	$34^1/_2$	11	7	7	7	9	9	7	7	7

Nach Berechnung in gleicher Weise wie bei den früheren Untersuchungen darf gesagt werden, daß Oxalat in dieser Konzentration bei Zitronensäurekonzentrationen von über 0·10 Promille (1 Mikrogr. Oxalat in 40 cmm; 4 Mikrogr. Zitronensäure darin entsprechen 0·10 Promille) nicht hemmend wirkt, wohl aber bei niedrigeren.

Hippursäure in einer Konzentration, der oberen Grenze der normalen 0·2 g pro Liter entsprechend, wirkt auf die Entfärbung nicht hemmend.

Zitronensäure Mikrogr.	4	5	4	4	4	4	4
Hippursäure Mikrogr.	—	—	40	20	8	4	2
Entfärbungszeit Min.	8	7	8	8	8	8	8

Harnsäure. Bei Versuchen, die Wirkung einer Harnsäureaufschlämmung von 0·8 g pro Liter zu prüfen, wurden folgende Resultate erhalten.

Zitronensäure Mikrogr.	3	4	5	4	4	4	4
Harnsäure Mikrogr. (berechnet) .	—	—	—	160	80	32	16
Entfärbungszeit Min.	$10^1/_2$	6	6	9	9	8	8

Den Resultaten nach zu urteilen, scheint die Harnsäure hemmend zu wirken, auch wenn nur geringere Mengen benutzt werden müssen. 16 Mikrogr. Harnsäure sollten in 20 ccm vorhanden sein. 4 Mikrogr.

Zitronensäure hierin entsprechen einem Zitronensäuregehalt von 0·20 Promille. Hierzu ist jedoch zu bemerken, daß die Harnsäure sich nicht in Lösung befindet, sondern als Suspension vorhanden ist, weshalb die hier angeführten Mengen vollkommen unsicher sind.

Harnstoff.

Zitronensäure Mikrogr. . . .			4			5			4		4		4
Harnstoff mg			—			—			7		3·5		1·4
Entfärbungszeit Min. . . .			$6^1/_2$			$6^1/_2$			$10^1/_2$		$9^1/_2$		9
Zitronensäure Mikrogr. .	—	3	4	5	6	4	5	6	7	4	5	6	7
Harnstoff mg	—	—	—	—	—	0·7	0·7	0·7	0·7	1·4	1·4	1·4	1·4
Entfärbungszeit Min. . .	35	10	7	7	7	$8^1/_2$	7	7	7	$8^1/_2$	7	7	7

Eine Harnstoffmenge von 35 g pro Liter (was an der oberen Grenze des Normalen liegen dürfte) wirkt auf die Entfärbung hemmend, auch wenn nur 20 cmm verwendet werden müssen. Die Analyse dieser Lösung sollte $^4/_{20} = 0{\cdot}20$ zum Resultat ergeben, während der wirkliche Wert ja $^5/_{20} = 0{\cdot}25$ Promille ist.

Kreatinin. Laut v. Krüger sind im Liter Harn bis zu 2 g vorhanden.

Zitronensäure Mikrogr. .	—	3	4	5	6	4	4	4	4	4
Kreatinin mg	—	—	—	—	—	0·4	0·2	0·08	0·04	0·02
Entfärbungszeit Min. . .	32	$10^1/_2$	7	7	7	7	7	7	7	7

Auch an der oberen Grenze seines normalen Vorkommens im Harn, scheint Kreatinin also nicht hemmend zu wirken.

Phenol wirkt nur hemmend, wenn es in größeren Konzentrationen vorkommt.

Azeton.

Zintronensäure Mikrogr. . . .	4	5	5
Azeton mg	—	—	0·06
Entfärbungszeit Min.	10	$8^1/_2$	$8^1/_2$

Aus den vorstehenden Zahlen ergibt sich, daß ein Azetongehalt von 0·3 g pro Liter die Entfärbung nicht beeinflußt, auch wenn die Vakuumröhre mit 200 cmm beschickt werden muß. Der Einfluß höherer Konzentrationen ist nicht untersucht worden.

Glykose.

Zitronensäure Mikrogr. . . .	4	5	4	4	4
Glykose mg	—	—	8	4	2
Entfärbungszeit Min. . . .	$8^1/_2$	$6^1/_2$	$9^1/_2$	9	$8^1/_2$

Ein so hoher Glykosegehalt wie 40 g pro Liter wirkt also nur hemmend, wenn 100 cmm oder mehr verwendet werden müssen.

Die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Entfärbung ist auch untersucht worden.

Für sämtliche p-H-Bestimmungen ist ein Audionröhrenpotentiometer nach Ljunggren und Elmquist (1929) und Chinhydronelektrode angewandt worden.

Die Extraktion des Enzyms aus den Gurkensamen erfolgt mit 0·87 prozent. K_2HPO_4. Das pH des fertigen Extrakts liegt fast immer bei 7·31, zuweilen in unmittelbarer Nähe dieses Wertes.

Ein Zusatz von Säure (HCl) oder Base (NaOH) zu verschiedenen Portionen der gleichen Zitronensäurelösung verändert natürlich das pH der Lösung stark.

A. 5 mg Zitronensäure in 100 ccm Aq. dest. gelöst.
B. Die Zitronensäurelösung mit Zusatz eines Tropfens 25 prozent. HCl auf 20 ccm·pH 2,46.
C. Die Zitronensäurelösung mit Zusatz eines Tropfens konz. NaOH auf 20 ccm·pH 9·80.

Von	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B
Zitronensäurelösung cmm	40	60	80	100	120	140	160	40	60	80	100	120	140	160
Entfärbungszeit Min. . . .	29	13	8	6	6	6	6	6	14½	11	8	6½	6½	6½	6

Von	C	C	C	C	C	C	C
Zitronensäurelösung cmm	40	60	80	100	120	140	160
Entfärbungszeit Min. . . .	13½	11	6½	6½	6½	6½	6½

Die Senkung des pH wirkt auf die Entfärbungszeit der niedrigeren Zitronensäurekonzentrationen etwas verlängernd. Die Erhöhung des pH scheint keine Veränderung zur Folge zu haben. (Die Verlängerung der Minimientfärbungszeit von 6 auf $6^1/^2$ beruht hier sicherlich auf einer Verschlechterung des Enzyms.) Aber ein derartiger Zusatz ganz einfach von Säure oder Base zu der Flüssigkeit, die untersucht werden soll, ist nicht imstande, das pH im Reaktionsgemisch wesentlich zu verändern. So wurde, bei einer anderen Untersuchung, das pH in der Zitronensäurelösung 4·45 bzw. 10·35 gefunden, während das pH im vereinigten Inhalt von drei Vakuumröhren nach der Entfärbung (Zusammensetzung: Extrakt 1·5 ccm, Mb-Lösung [1:60000] 0·9 ccm, Zitronensäurelösung 0·3 ccm, Aq. dest. 0·3 ccm) 7·52 bzw. 7·62 war.

In der Absicht, mittels Zitronensäurelösungen, deren cH das Gebiet umfaßt, innerhalb dessen der Harn gewöhnlich liegt, eine größtmögliche Beeinflussung des cH des Reaktionsgemisches zu erhalten, ist die Zitronensäure in Puffergemischen von primärem und sekundärem Kaliumphosphat gelöst worden.

Vier solche Puffergemische wurden zubereitet, jedes mit 5 mg Zitronensäure, in 100 ccm gelöst. Ihre pH-Werte waren die folgenden: A. 4·46, B. 6·17, C. 7·10 und D. 8·34.

cmm Lösung	A:	40	60	80	100	120	140
Entfärbungszeit Min. . .		28	21½	14	12½	8½	8½
cmm Lösung	B:	40	60	80	100	120	140
Entfärbungszeit Min. . .		30	21	12½	11	8½	8½
cmm Lösung	C:	40	60	80	100	120	140
Entfärbungszeit Min. . .		28	20½	12½	11	8½	8½
cmm Lösung	D:	40	60	80	100	120	140
Entfärbungszeit Min. . .		30½	21	13	11	8½	8½

Nach der Entfärbung waren die pH-Werte für die verschiedenen Serien, wenn der Inhalt in allen Röhren jeder Serie vereinigt worden war, folgende: A. 7·17, B. 7·22, C. 7·51, D. 7·55.

Gegen diese Versuche, die zu zeigen scheinen, daß Variationen der cH innerhalb dieser Grenzen die Entfärbungszeit nicht beeinflussen, kann eingewendet werden, daß der steigernde Effekt, den ein erhöhtes pH ausübt, hier durch eine Verlängerung der Entfärbungszeiten, die eine Verschlechterung des Extraktes im Verlaufe des Versuches mit sicht bringt, kompensiert wird. Um diese Fehlerquelle zu vermeiden, ist die Untersuchung in folgender Weise variiert worden.

Puffermischungen mit 5 mg Zitronensäure pro 100 ccm pH: A. 4·53, B. 6·14, C. 6·99, D. 7·28, E. 8·24.

cmm A	60				80				100				120				140			
cmm B		60				80				100				120				140		
cmm C			60				80				100				120				140	
cmm D				60				80				100				120				140
cmm E					60				80				100				120			140
Entfärb.-Zeit Min.	10	10	10	10	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7	7	7	7	7	8	7	7	7	7

Nach der Entfärbung betrug das pH in den Serien (sämtliche Röhren innerhalb jeder Serie vereinigt): A. 7·15, B. 7·15, C. 7·31, D. 7·33, E. 7·38. Die Verzögerung in der 140-ccm-Röhre der Serie A dürfte durch ein Zusammenwirken zwischen dem niedrigen pH und der Verschlechterung des Extraktes verursacht worden sein.

Praktisch genommen, können Variationen im cH dieses Gebietes als bedeutungslos für das Resultat der Analyse betrachtet werden.

Eine stärkere Beeinflussung macht sich geltend, wenn der Zitronensäuregehalt der Lösung niedriger ist, so daß größere Mengen davon verwendet werden müssen, um die Minimientfärbungszeit zu erhalten.

Puffermischungen mit 3 mg Zitronensäure per 100 ccm·pH: A. 4·32, B. 6·72, C. 8·15.

cmm A	80	100	120	140	160	180	200
Entfärbungszeit, Min. . .	34	$30^1/_2$	$17^1/_2$	$12^1/_2$	11	11	$9^1/_2$
cmm B	80	100	120	140	160	180	200
Entfärbungszeit, Min. . .	$34^1/_2$	$30^1/_2$	24	11	10	8	8
cmm C	80	100	120	140	160	180	200
Entfärbungszeit, Min. . .	29	$25^1/_2$	$23^1/_2$	17	$11^1/_2$	$7^1/_2$	6

Nach der Entfärbung war das pH in den Serien (die Röhren vereinigt): A. 6·97, B. 7·15, C. 7·40.

Wie ersichtlich, macht sich die Wirkung in den Röhren mit den größeren Mengen Pufferlösung geltend und ist dort so stark, daß sie zu erheblichen Irrtümern führen kann. In einem stark sauren Harn ist es möglich, zu niedrige Werte zu erhalten, in einem stark alkalischen zu hohe. Die Bedingung ist indessen in beiden Fällen, daß relativ große

Mengen verwendet werden müssen, weshalb der Fehler also nur die niedrigen Werte betrifft.

Außer der Mehrzahl der wichtigeren Harnbestandteile je für sich, ist auch eine Mischung einiger Harnsalze auf ihr Vermögen, die Entfärbung zu hemmen, geprüft worden.

Eine Mischung folgender Zusammensetzung ist benutzt worden: 1·5 g NaCl, 0·5 g K_2SO_4, ein Tropfen verdünnte HNO_3, 0·08 g $CaCl_2$, 0·065 g $MgSO_4$, 2·7 mg Na-Oxalat, 0·2 g H_3N, 3·5 g Harnstoff, 0·08 g Harnsäure, alles in 100 ccm gelöst.

Zitronensäure, Mikrogr.	—	3	4	5	6	4	4	4	4	4	4	4
Salzlösung, cmm	—	—	—	—	—	200	160	120	80	40	20	10
Entfärbungszeit, Min.	40½	11	8	8	8	14	13½	12	12	11	11	10

Bei einer solchen, einem konzentrierten Harn entsprechenden Salzlösung macht sich also ein hemmender Effekt schon bemerkbar, wenn nur 10 cmm davon verwendet werden.

Zitronensäure, Mikrogr.	—	3	4	5	6	4	5	6	4	5	6	7
Salzlösung, cmm	—	—	—	—	—	40	40	40	80	80	80	80
Entfärbungszeit, Min.	40	11	8½	7½	7½	12	10½	9	13½	11½	10½	9

In diesem Versuch ist der Knick nicht erreicht worden, es ergibt sich aber deutlich, daß er beträchtlich nach rechts verschoben ist, so daß man bei einer derartigen Analyse viel zu niedrige Werte erhält.

Zitronensäure, Mikrogr.	—	3	4	5	6	6	7	8	9	10	5	6	7	8
Salzlösung, cmm	—	—	—	—	—	30	30	30	30	30	20	20	20	20
Entfärbungszeit, Min.	35	12½	9½	8	8	9½	8	8	8	8	8½	8	8	8

In der Serie mit 30 cmm Salzlösung in jeder Röhre sollte als Resultat erhalten werden: $^5/_{30} = 0{\cdot}167$ Promille, während der wirkliche Wert $^7/_{30} = 0{\cdot}23$ Promille beträgt. In der 20-cmm-Serie ist die Verzögerung der Röhre mit 5 Mikrogr. ja äußerst unbedeutend, bei streng kritischer Beurteilung sollte man aber auch hier etwas zu niedrige Werte erhalten. Indessen scheinen verschiedene Extrakte für die Salzwirkung verschieden empfindlich zu sein, was aus folgender Kontrolluntersuchung hervorgeht.

Zitronensäure, Mikrogr.	—	3	4	5	6	4	5	6	7	8	9
Salzlösung, cmm	—	—	—	—	—	20	20	20	20	20	20
Entfärbungszeit, Min.	37	12	8½	7½	7½	11½	10	8	7½	7½	7½

Hier sollte der erhaltene Wert $^5/_{20}$ sein, während er in Wirklichkeit $^7/_{20}$ ist, also 0·25 Promille anstatt 0·35.

Bei anderen ähnlichen Kontrollserien wiederum wurde keine Beeinflussung in den Serien mit 10 bzw. 20 cmm beobachtet. Diese Unterschiede beruhen wahrscheinlich auf einer ungleichen Empfindlichkeit der Enzymlösungen. Es soll jedoch von neuem betont werden, daß die Harnsäure sich nicht in Lösung befindet, weshalb trotz sorgfältigen Umschüttelns Unterschiede im Harnsäuregehalt sicherlich vorhanden sein können.

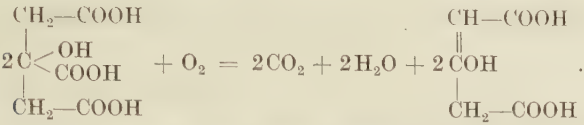
Aus diesen Untersuchungen ergibt sich indessen mit Sicherheit, daß die übrigen Harnbestandteile die Entfärbungszeit beeinflussen, und daß diese Beeinflussung sich um so stärker zeigt, je größer die Harnmenge

ist, die der Vakuumröhre zugesetzt werden muß, um die Minimientfärbungszeit zu erhalten. Demnach ist die Quote übrige Bestandteile Zitronensäure entscheidend. Ist diese groß, d. h. der Harn im übrigen konzentriert, aber an Zitronensäure arm, wird die Beeinflussung groß. Ist dagegen der Zitronensäuregehalt relativ hoch, wird diese Fehlerquelle eliminiert, und die erhaltenen Werte können als richtig betrachtet werden. In den angeführten Versuchen, wo die verschiedenen Stoffe stets in einer Menge teilgenommen haben, die ihrer höchsten normalen Konzentration im Harn entsprechen, ist ja kaum eine Beeinflussung vorgekommen, wenn nicht mehr als die Menge, die in 10 cmm vorhanden sein sollte, der Röhre zugesetzt worden ist. Da der Knick stets bei 4 oder 5 Mikrogr. zu liegen pflegt, sollten Werte von 0·40 bzw. 0·50 Promille und darüber immer als richtig betrachtet werden können. Bei zunächst darunter liegenden Werten besteht in einem im übrigen konzentrierten Harn die Gefahr, daß die Werte etwas fehlerhaft ausfallen. Die Gefahr für Fehler wächst mit sinkendem Zitronensäuregehalt, gleichwie auch die Größe des Fehlers. Er kann bei den sehr niedrigen Konzentrationen (unter 0·05 Promille) sicherlich 100 Proz. oder mehr betragen, was man aus einem Teil der oben angeführten Resultate herauslesen kann.

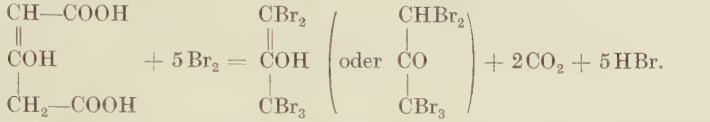
Die meisten der untersuchten Stoffe wirken auf das Resultat senkend. Es ist daher anzunehmen, daß die niedrigen Werte zuweilen nach oben zu korrigieren sind. Diese Korrektion dürfte jedoch für die Werte um 0·2 Promille und darüber nie mehr als ungefähr 20 Proz. betragen. Eine Bestimmung des Grades der Korrektion in jedem einzelnen Falle durch Analyse der übrigen Bestandteile ist natürlich ausgeschlossen. Sicher sind die Werte von dieser Größe in der Regel richtig. Für Werte unter 0·10 Promille, sowie in noch höherem Grade für Werte unter 0·05 Promille gilt dagegen, daß sie sicherlich meistens zu niedrig sind. Man kann also erhaltenen Variationen dieser niedrigen Werte keine größere Bedeutung beilegen, da sie durch Variationen der übrigen Bestandteile des Harns verursacht werden können. Mit diesen Einschränkungen muß man der Methode vollguten Wert für qualitative und quantitative Analyse von Zitronensäure beimessen.

C. Vergleichende Untersuchungen zwischen der Thunberg-Methode und der Pentabromazetonmethode.

Aus dem bei Besprechung der früher verwendeten Zitronensäurebestimmungsmethoden Angeführten dürfte hervorgehen, daß die Pentabromazetonmethode für Harnanalysen die geeignetste ist. Die chemische Unterlage der Reaktion ist durch Untersuchungen von Wöhlk (1902) festgestellt. Das Permanganat oxydiert die Zitronensäure nach folgender Formel zu Azetondicarbonsäure:



Die Azetondicarbonsäure wird dann durch Br zu Pentabromazeton substituiert:



Trotz eines Überschusses von Br bildet sich niemals Hexabromazeton (was mit dem Vorkommen von Azetondicarbonsäure in der Enolform in Zusammenhang gesetzt wird, Bleyler und Schwaibold 1925).

Während also die theoretische Unterlage bekannt und anerkannt ist, hat man die praktische Ausführung in mehreren Einzelheiten modifiziert. Die Methode gibt keine vollkommen quantitative Ausbeute, darauf beruhend, daß das Pentabromazeton auch in kaltem Wasser in gewissem Maße löslich ist, und daß es in Luft, auch bei Zimmertemperatur, in geringem Grade flüchtig ist. Aus diesen Gründen muß stets mit einem gewissen Verlust gerechnet werden. Ferner gibt es im Harn Stoffe, die im Verlauf der Reaktion Niederschläge hervorrufen, die nicht aus Pentabromazeton bestehen. Diese Stoffe können zum Teil mit Tierkohle entfernt werden. Mc Clure (1922) hat gefunden, daß beim Kochen mit Tierkohle in saurer Lösung 27 Proz. der Zitronensäure verschwinden. Ein bloßes Schütteln damit in alkalischer Lösung gibt aber keinen oder nur einen unbedeutenden Verlust. Brom verursacht in einigen Fällen (wie Fasold [1930 B] es hervorhebt, namentlich wenn der Harn mit Toluol konserviert worden ist) die Entstehung eines reichlichen Niederschlages, der vor der Oxydation abfiltriert werden muß. Trotz dieser Maßnahmen kommt es zuweilen vor, daß der endgültige Niederschlag auch andere Stoffe als Pentabromazeton enthält. Dies erzeigt sich durch einen Rest beim Auflösen des Niederschlages in Äther, worin Pentabromazeton leicht löslich ist, oder beim Erwärmen desselben auf ungefähr 100°, wobei das Pentabromazeton leicht und vollständig weggeht. Deshalb soll die Pentabromazetonmenge nicht durch das Gewicht des Niederschlages, sondern durch die Gewichtsdifferenz vor und nach der Äther- oder Wärmebehandlung bestimmt werden. Bleyler und Schwaibold (1925) haben eine Modifikation vorgeschlagen, bei der der Pentabromazetonniederschlag volumetrisch gemessen wird. Der in einer besonders konstruierten Proberöhre entstandene Niederschlag wird in den unteren, zu einer Kapillarröhre ausgezogenen Teil, der mit Hilfe bekannter Zitronensäuremengen empirisch gradiert ist,

herabzentrifugiert. Diese Methode eignet sich aus oben angeführten Gründen nicht zu Harnanalysen.

Ich habe mehrere Bestimmungen des Zitronensäuregehaltes des Harns unter Verwendung der Thunbergschen und der Pentabromazetonmethode gleichzeitig an den gleichen Harnen ausgeführt, um einen Vergleich zwischen den gefundenen Resultaten anstellen zu können.

Die Ausführung ist hauptsächlich nach der von Mc Clure (1922) für Harn angegebenen Verfahrungsweise, mit kleineren Modifikationen, teilweise im Anschluß an Hartmann und Hillig (1927 und 1928) vollzogen worden.

Wenn der Harn sauer ist, werden 5 Proz. NaOH bis zum Umschlag mit Lackmus zugesetzt. Ein Quantum von gut 200 ccm Harn wird filtriert. Das Filtrat wird während wenigstens 1 Min. mit Blutkohle, 1 g per 50 ccm Harn, tüchtig geschüttelt. Darauf wird neuerdings filtriert, was zur Erhaltung eines klaren Filtrates oft ein paarmal wiederholt werden muß. Das Filtrat wird mit verdünnter H_2SO_4 (konzentrierter Säure und Aq. dest. ana), 10 ccm per 50 ccm Filtrat, versetzt. Man überführt die Flüssigkeit in einen Kolben und leitet Bromdampf mittels einer Wasserstrahlpumpe hindurch. Ein eventuell entstandener Niederschlag wird abfiltriert. Vom Filtrate nimmt man eine Doppelprobe von 60 ccm (also 50 ccm Harn enthaltend). Jede dieser Proben wird in einem Erlenmeyerkolben mit 5 ccm einer 37·5prozent. KBr-Lösung versetzt. Darauf senkt man den Kolben in ein Wasserbad mit einer Temperatur von 48° C ein. Nachdem der Inhalt des Kolbens diese Temperatur angenommen hat, werden in ziemlich rascher Tropfenfolge 15 ccm 5prozent. $KMnO_4$-Lösung unter Umschütteln zugesetzt. Hierbei entsteht ein dicker dunkelbrauner Niederschlag von $Mn(OH)_4$, und die Lösung obendrauf färbt sich braun. Wenn nach einigem Schütteln der Niederschlag wieder verschwindet, muß mehr Permanganat zugesetzt werden. Der Kolben wird in fließendem Wasser gekühlt und eine eisgekühlte Ferrosulfatlösung (20 g Ferrosulfat in 99 ccm Aq. dest. + 1 ccm konz. H_2SO_4 gelöst) unter kräftigem Schütteln zugesetzt, bis der braune Niederschlag in Lösung geht und die Flüssigkeit fast farblos wird. Man setzt einen Überschuß von Ferrosulfatlösung zu. Die Flüssigkeit wird bis zum folgenden Tag im Eisschrank stehen gelassen. Die entstandene Fällung führt man in einen Glasfiltertiegel über, wobei man genau darauf achtet, daß an der Wandung des Kolbens nichts zurückbleibt. Der Niederschlag wird mit 60 ccm eisgekühlter, verdünnter H_2SO_4 (1 ccm konz. H_2SO_4 und 100 ccm Aq. dest.), auf drei Portionen verteilt, sowie mit 60 ccm eisgekühltem Aq. dest. gewaschen. Das Glasfilter wird 24 Stunden in einem Exsikkator über konz. Schwefelsäure stehen gelassen und darauf gewogen. Dann löst man den Pentabromazetonniederschlag, indem man 100 cmm Äther aufgießt und hindurch saugt. Nach weiterem eintägigem Stehenlassen im Exsikkator wird neuerdings gewogen. Der Unterschied zwischen den beiden derart erhaltenen Gewichten bildet das Gewicht des Pentabromazetonniederschlages. Durch Multiplikation des-

selben mit 0·464 sollte die Menge Zitronensäure + 1 Mol. Kristallwasser in 50 ccm erhalten werden. Diese muß indessen durch Addition des „unbestimmbaren" Restes korrigiert werden, d. h. der Zitronensäuremenge, die während der Analyse verloren gegangen ist. Dieselbe wird von McClure (1922) zu 5 mg angegeben. Für die von mir benutzte Methodik ist der Wert des unbestimmbaren Restes durch Kontrollbestimmungen bekannter Zitronensäurelösungen, die ab und zu im Verlaufe der Untersuchungen mit der Methode vorgenommen worden sind, festgestellt worden.

Datum der Untersuchung	mg Zitronensäure in 50 ccm	Gefunden	Unbestimmbarer Rest	Datum der Untersuchung	mg Zitronensäure in 50 ccm	Gefunden	Unbestimmbarer Rest
7. III.	5	0·3	4·7	26. III.	25	18·4	6·6
7. III.	5	0·0	5·0	26. III.	25	18·4	6·6
7. III.	5	0·4	4·6	26. III.	25	18·6	6·4
7. III.	5	0·0	5·0	5. V.	25	20·9	4·1
5. V.	5	0·3	4·7	6. I.	30	24·2	5·8
23. I.	10	4·5	5·5	6. I.	30	22·7	7·3
23. I.	10	6·5	3·5	23. I.	30	25·0	5·0
11. III.	10	4·8	5·2	8. III.	30	24·6	5·4
11. III.	10	5·6	4·4	8. III.	30	25·2	4·8
11. III.	10	5·9	4·1	15. IV.	30	23·9	6·1
11. III.	10	5·5	4·5	15. IV.	30	24·3	5·7
20. III.	10	5·2	4·8	15. IV.	30	24·4	5·6
20. III.	10	5·4	4·6	15. IV.	30	24·0	6·0
20. III.	10	4·0	6·0	5. V.	30	25·9	4·1
20. III.	10	4·8	5·2	4. V.	35	29·2	5·8
20. III.	10	4·4	5·6	4. V.	35	29·9	5·1
5. V.	10	5·1	4·9	4. V.	35	29·2	5·8
11. III.	15	10·9	4·1	4. V.	35	29·9	5·1
11. III.	15	10·0	5·0	5. V.	35	30·1	4·9
11. III.	15	11·4	3·6	23. I.	40	35·7	4·3
11. III.	15	11·4	3·6	23. I.	40	34·3	5·7
21. III.	15	9·7	5·3	10. III.	40	32·4	7·6
21. III.	15	10·6	4·4	10. III.	40	32·1	7·9
21. III.	15	9·7	5·3	15. IV.	40	34·7	5·3
21. III.	15	9·7	5·3	15. IV.	40	34·0	6·0
21. III.	15	9·7	5·3	5. V.	40	35·7	4·3
5. V.	15	11·5	3·5	10. III.	45	37·8	7·2
6. I.	20	12·8	7·2	10. III.	45	37·5	7·5
6. I.	20	12·7	7·3	30. IV.	45	37·6	7·4
12. III.	20	13·2	6·8	30. IV.	45	38·0	7·0
12. III.	20	13·4	6·6	30. IV.	45	37·7	7·3
22. III.	20	14·9	5·1	30. IV.	45	38·4	6·6
22. III.	20	14·4	5·6	5. V.	45	41·0	4·0
22. III.	20	14·5	5·5	23. I.	50	45·8	4·2
22. III.	20	14·5	5·5	23. I.	50	46·0	4·0
22. III.	20	14·4	5·6	11. III.	50	45·5	4·5
5. V.	20	15·8	4·2	11. III.	50	44·7	5·3
8. III.	25	19·4	5·6	11. III.	50	44·7	5·3
8. III.	25	20·1	4·9	2. V.	50	45·0	5·0
12. III.	25	18·3	6·7	2. V.	50	44·8	5·2
12. III.	25	18·2	6·8	5. V.	50	45·8	4·2
26. III.	25	18·8	6·2				

Ohne die 5-mg-Probe mitzurechnen, wo der Rest ja nicht mehr als 5 betragen kann, wird für den mittleren Wert des unbestimmbaren Restes 5·45 mg erhalten. Bei meinen Harnanalysen habe ich stets mit einem Rest von 5 mg gerechnet, welche Zahl also zum erhaltenen Resultat addiert worden ist. Bemerkt soll werden, daß die erhaltenen Werte im Durchschnitt vielleicht etwas zu niedrig sind. Es ist möglich und auch wahrscheinlich, daß die Verluste während der Analyse von Harn etwas größer ausfallen als bei der von reinen Zitronensäurelösungen. Die Niederschläge, die bei den Reinigungsprozeduren entstehen, die die Oxydation vorbereiten, können etwas Zitronensäure mit sich reißen. Um dies zu untersuchen, kann man zitronensäurefreien Harn mit einer abgewogenen Menge Zitronensäure versetzen und dann analysieren. Eine Anzahl Harne, die keine oder nur eine Spur von Zitronensäurereaktion mit der Thunbergschen Methode gezeigt und keinen Pentabromazetonniederschlag gegeben haben, sind in dieser Hinsicht untersucht worden.

	Datum	Thunbergs Methode	mg Zusatz zu 50 ccm Harn	Gefunden	Unbestimmbarer Rest
B. B.	21. II.	Spur ?	50	41·4	8·6
A. H.	16. III.	0·08 ? Promille	25	18·9	6·1 (+4)
M. A.	16.	Spur	50	43·1	6·9
M. A.	17.	0·03 ? Promille	25	22·4	2·6 (+1·5)
A. H.	26.	0·03 ? Promille	30	10·1	19·9 (+1·5)
V. R.	7. V.	0	20	4·5	15·5
V. R.	11.	0	10	3·5	6·5
V. R.	13.	0	20	12·2	7·8
V. R.	15.	0	5	0·0	
V. R.	19.	0	15	5·1	9·9

Der unbestimmbare Rest scheint demnach bei den Harnanalysen in der Regel über 5 mg zu liegen, bisweilen sogar beträchtlich höher, was auf oben angeführte Gründe zurückzuführen sein dürfte. Es soll jedoch besonders hervorgehoben werden, daß diese Kontrollproben an einer Sammlung deutlich pathologischer Harne, die meisten mit Eiweißgehalt, vorgenommen worden sind. Für normale Harne dürfte sich die Kontrolle bedeutend besser gestalten.

Mit den zwei Methoden sind gleichzeitig teils Untersuchungen an gleichen Personen während längeren Perioden, unter denen man durch äußere Faktoren den Zitronensäuregehalt des Harns zu variieren versucht hat, teils einzelne Untersuchungen an einer Mehrzahl von Harnen, vorgenommen worden. Mit der Pentabromazetonmethode habe ich stets Doppelproben ausgeführt; eine Ausnahme bildeten einzelne Fälle, wo der Harn dazu nicht ausreichte. Der Mittelwert für die Differenz zwischen den Resultaten der Doppelproben beträgt 1·01 mg (bei 112 Untersuchungen).

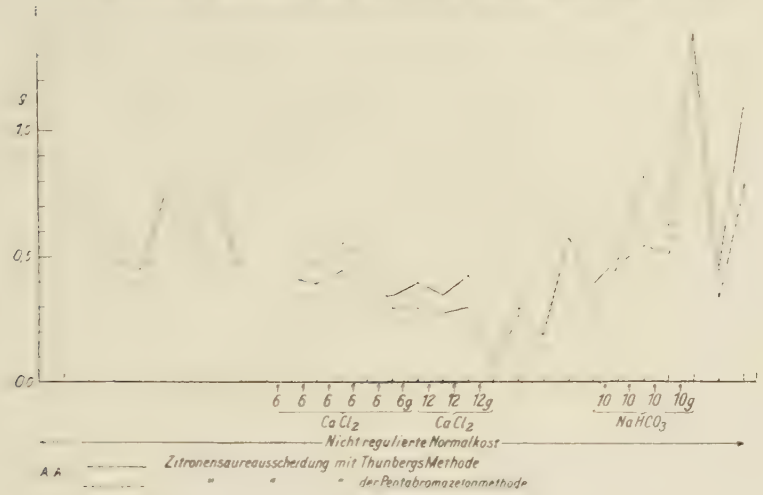


Fig. 4.

A. A. Siehe Fig. 4.

Datum	Zufuhr	Harnmenge ccm	Zitronensäureausscheidung mit Thunbergs Methode g	Zitronensäureausscheidung mit der Pentabromazetonmethode g	Der Pentabromazetonwert in Proz. des Thunbergwertes
23. I.	Nicht regulierte Normalkost	700	0·70	0·73	104
24. I.		600	0·60	0·65	108
25.		500	0·50	0·41	82
26.		450	0·45	0·30	67
27.		600	0·75	0·77	103
28.		400 +	0·53 +	0·66 +	125
29.		800	0·80	0·45	56
30.		400 +	0·40 +	0·49 +	123
1. II.	6 g $CaCl_2$	2000	0·50	0·42	84
2.	6 g $CaCl_2$	700	0·47	0·40	85
3.	6 g $CaCl_2$	1000	0·56	0·45	80
4.	6 g $CaCl_2$	1200	0·50	0·34	68
5.	6 g $CaCl_2$	600	0·30	0·35	117
6.	6 g $CaCl_2$	1200	0·30	0·40	133
7.	12 g $CaCl_2$	850	0·28	0·35	125
8.	12 g $CaCl_2$	1200	0·30	0·43	143
9.	12 g $CaCl_2$	500	0·07	0·11	157
10.		1300	0·27	0·30	111
11.		600	0·19	0·19	100
12.		700	0·58	0·58	100
13.		300 +	0·40 +	0·29 +	73
14.	10 g $NaHCO_3$	500	0·50	0·48	96
15.	10 g $NaHCO_3$	1000	0·83	0·55	66
16.	10 g $NaHCO_3$	500	0·63	0·52	83
17.	10 g $NaHCO_3$	1400	1·40	1·25	89
18.		800	0·45	0·34	76
19.		1100	1·10	0·79	72

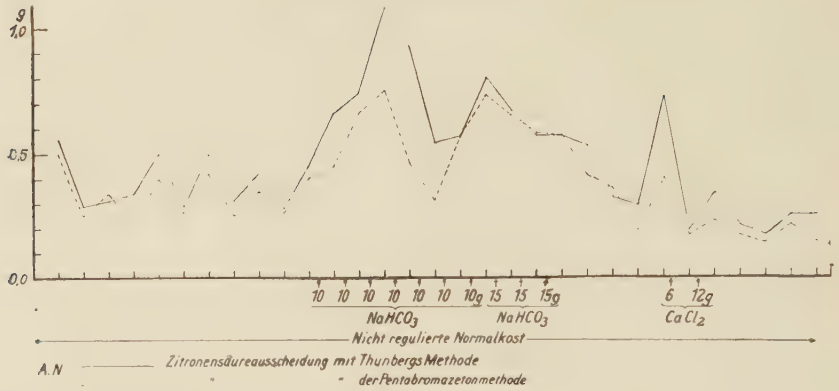


Fig. 5.

A. N. Siehe Fig. 5.

Datum	Zufuhr	Harnmenge ccm	Zitronensäureausscheidung mit Thunbergs Methode g	Zitronensäureausscheidung mit der Pentabromazetonmethode g	Der Pentabromazetonwert in Proz. des Thunbergwertes
20. I.	Nicht regulierte Normalkost	1000	0·56	0·50	89
21.		700	0·29	0·25	86
22.		1000	0·31	0·34	110
23.		800	0·34	0·21	62
24.		600	0·50	0·40	80
25.		925	0·29	0·26	90
26.		1200	0·50	0·42	84
27.		1000	0·31	0·25	81
28.		1050	0·42	0·35	83
29.		900	0·28	0·26	93
30.		800	0·45	0·40	89
31.	10 g $NaHCO_3$	800	0·66	0·45	68
1. II.	10 g $NaHCO_3$	1100	0·74	0·66	89
2.	10 g $NaHCO_3$	1300	1·08	0·75	69
3.	10 g $NaHCO_3$	1300	0·92	0·46	50
4.	10 g $NaHCO_3$	850	0·54	0·31	57
5.	10 g $NaHCO_3$	1300	0·57	0·57	100
6.	10 g $NaHCO_3$	1400	0·80	0·73	91
7.	15 g $NaHCO_3$	1200	0·67	0·65	97
8.	15 g $NaHCO_3$	1000	0·57	0·58	102
9.	15 g $NaHCO_3$	1300	0·57	0·57	100
10.		750	0·53	0·41	77
11.		400	0·32	0·36	112·5
12.		700	0·29	0·19	66
13.		900	0·72	0·40	55·5
14.	6 g $CaCl_2$	600	0·19	0·17	89·5
15.	12 g $CaCl_2$	1100	0·34	0·23	68
16.		1000	0·21	0·17	81
17.		900	0·17	0·14	82
18.		800	0·25	0·21	84
19.		800	0·25	0·14	56

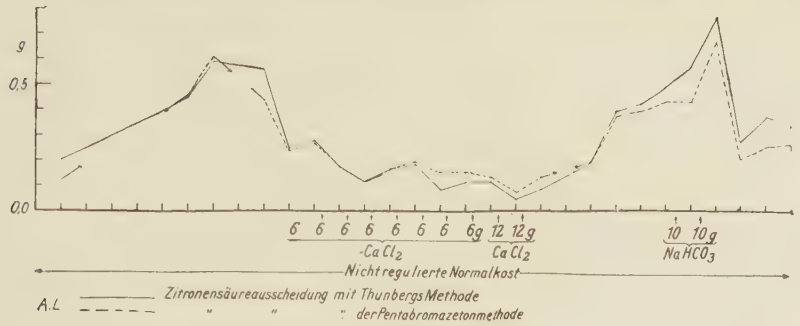


Fig. 6.

A. L. Siehe Fig. 6.

Datum	Zufuhr	Harnmenge	Zitronensäureausscheidung mit Thunbergs Methode	mit der Pentabromazeton-methode	Der Pentabromazeton-wert in Proz. des Thunberg-wertes
		ccm	g	g	
21. I.	Nicht regulierte Normalkost	1000	0·20	0·12	60
26.		900	0·45	0·46	102
27.		1900	0·59	0·61	103
29.		1000	0·56	0·44	79
30.	6 g $CaCl_2$	700	0·25	0·24	96
31.	6 g $CaCl_2$	900	0·28	0·27	96
1. II.	6 g $CaCl_2$	900	0·18	0·18	100
2.	6 g $CaCl_2$	600 +	0·12 +	0·12 +	100
3.	6 g $CaCl_2$	900	0·17	0·17	100
4.	6 g $CaCl_2$	1000	0·19	0·20	105
5.	6 g $CaCl_2$	700	0·09	0·16	178
6.	6 g $CaCl_2$	800	0·12	0·16	133
7.	6 g $CaCl_2$	900	0·12	0·14	117
8.	12 g $CaCl_2$	500 +	0·05 +	0·08 +	160
9.	12 g $CaCl_2$	800	0·09	0·14	156
11.		400	0·20	0·20	100
12.		800	0·40	0·38	95
13.		600	0·43	0·40	93
14.		700	0·50	0·44	88
15.	10 g $NaHCO_3$	700	0·58	0·44	76
16.	10 g $NaHCO_3$	1100	0·78	0·68	87
17.		400	0·28	0·21	75
18.		600	0·38	0·26	68
19.		500 +	0·35 +	0·27 +	77

Name	Datum	Harnmenge	Zitronensäureausscheidung mit Thunbergs Methode	Zitronensäureausscheidung mit der Pentabromazetonmethode g	Differenz zwischen Thunberg- und Pentabromazetonwert g	Der Pentabromazetonwert in Proz. des Thunbergwertes	Gewicht des Pentabromazetonniederschlages mg
M. P.	27. III.	600	0·43 g	0·39	− 0·04	91	—
A. P.	27.	450	0·32 g	0·23	− 0·09	72	—
E. G.	28.	1600	0	0	—	—	—
E. P.	28.	750	0	0	—	—	—
S. B.	28.	500	0·67 Promille	—	—	—	4·0, 0·0
H. S.	28.	600	0·40 g	0·36	− 0·04	90	—
A. E.	29.	500	0·20 Promille	0	—	—	—
V. L.	29.	1100	0·07 Promille	—	—	—	0·4
M. P.	29.	500	0	0	—	—	—
A. N.	31.	700	0·14 g	0·12	− 0·02	86	—
A. F.	31.	700	0·50 g	0·30	− 0·20	60	—
M. A.	1. IV.	1000	0·67 g	0·56	− 0·11	84	—
H. A.	1.	450	Spuren	0	—	—	—
A. S.	1.	1000	1·0 g	0·78	− 0·22	78	—
E. M.	2.	3300	0·2 Promille	0	—	—	—
E. P.	2.	1400	0	0	—	—	—
E. G.	2.	1200	Spuren	0	—	—	—
E. J.	3.	1000	0·17 Promille	—	—	—	0·5, 0·4
E. G.	3.	1000	0	0	—	—	—
E. J.	3.	1600	0	0	—	—	—
E. J.	6.	400	0·14 g	0·11	− 0·03	79	—
M. P.	6.	500	0·40 g	0·31	− 0·09	78	—
H. J.	7.	900	0·40 g	0·32	− 0·08	80	—
M. J.	7.	400	0·10 Promille	—	—	—	0·6, 1·0
B. A.	8.	700	0·40 g	0·25	− 0·15	63	—
V. O.	8.	1000	0·31 g	0·12	− 0·19	39	—
J. P.	8.	650	0·52 g	0·38	− 0·12	73	—
C. O.	9.	500	0·29 g	0·28	− 0·01	97	—
S. A.	9.	400	1·20 g	1·04	− 0·16	87	—
V. R.	9.	600	0	0	—	—	—
V. R.	15.	900	0	0	—	—	—
M. J.	10.	1200	0·24 g	0·24	− 0	100	—
B. L.	10.	600	0·22 g	0·14	− 0·08	64	—
L. G.	10.	900	0·15 g	0·19	+ 0·04	127	—
L. G.	11.	1000	0·10 g	0·12	+ 0·02	120	—
L. G.	15.	700	0·25 g	0·18	− 0·07	72	—
L. G.	16.	800	0·27 g	0·29	+ 0·02	107	—
L. G.	17.	900	0·36 g	0·34	− 0·02	94	—
L. G.	18.	1000	0·57 g	0·56	− 0·01	98	—
L. G.	21.	1600	0·66 g	0·62	− 0·04	94	—
L. G.	22.	1000	0·40 g	0·42	+ 0·02	105	—
C. C.	11.	1000	0·18 g	0·21	+ 0·03	117	—
K. P.	13.	700	0·38 g	0·31	− 0·07	82	—
S. A.	13.	400	0·68 g	0·79	+ 0·11	116	—
E. P.	15.	1000	Spuren	0	—	—	—
E. P.	18.	800	0	0	—	—	—
E. P.	21.	1300	Spuren	0	—	—	—

(Fortsetzung.)

Name	Datum	Harnmenge	Zitronensäureausscheidung mit Thunbergs Methode	Zitronensäureausscheidung mit der Pentabromazetonmethode g	Differenz zwischen Thunberg- und Pentabromazetonwert g	Der Pentabromazetonwert in Proz. des Thunbergwertes	Gewicht des Pentabromazetonniederschlages mg
E. P.	22. IV.	1000	0	0	—	—	—
E. A.	16.	375	0·21 g	0·28	+ 0·07	133	—
A. P.	16.	400	0·20 g	0·17	− 0·03	85	—
P. T.	24.	500	0·10 g	0·12	+ 0·02	120	—
P. T.	25.	1000	0·42 g	0·41	− 0·01	98	—
P. T.	26.	700	0·10 Promille	0	—	—	—
P. T.	27.	500	0·40 g	0·45	− 0·05	113	—
A. K.	26.	500	0·08 Promille	0	—	—	—

Wenn man davon ausgeht, daß die Pentabromazetonreaktion für Zitronensäure spezifisch ist, geht aus diesen Kontrolluntersuchungen hervor, daß man mit der Thunbergschen Methode immer Zitronensäure nachweisen kann, wo solche vorhanden ist; denn die letztere ist keinesfalls negativ gewesen, wo die erstere sich positiv gezeigt hat. In einigen Fällen ist Zitronensäure mit der Thunbergschen Methode in ziemlich hoher Konzentration nachgewiesen worden, während man keinen oder nur einen äußerst unbedeutenden Pentabromazetonniederschlag erhalten hat (0·67 Promille, 0·20 Promille und 0·17 Promille). Man kann sich natürlich hierbei auch denken, daß ein anderer Stoff als die Zitronensäure die Thunbergsche Reaktion gegeben hat; das Wahrscheinlichere ist aber, daß die Zitronensäure in einer der Phasen der Pentabromazetonreaktion verloren gegangen ist.

In bezug auf die Übereinstimmung der erhaltenen Werte gibt es unter den 132 parallel untersuchten Harnen zehnmal große Abweichungen (über 0·20 g per Tag). Maximum 0·46 g. Und in 24 Fällen liegt die Abweichung zwischen 0·10 und 0·19 g. Da es sich in allen diesen Fällen um relativ große Zitronensäuremengen handelt, bei denen ja die Fehlerquellen der Thunbergschen Methode laut meinen Untersuchungen am kleinsten sind, wagt man, bei Kenntnis der vielen Manipulationen und Fehlerquellen der Pentabromazetonmethode, anzunehmen, daß die Fehler hauptsächlich in dieser letzteren Methode liegen. Der unbestimmbare Rest beträgt 5 mg (in 50 ccm), weshalb die untere Grenze für die Empfindlichkeit der Pentabromazetonmethode bei 0·10 Promille liegt. Es ist daher zu erwarten, daß man in Harnen, wo man mit der Thunbergschen Methode Werte bei oder unter dieser Höhe findet, keinen Pentabromazetonniederschlag bekommt.

Im übrigen muß gesagt werden, daß die Resultate, mit diesen Ausnahmen, in der Hauptsache ziemlich gute Übereinstimmung aufweisen. Daß die mit der Pentabromazetonmethode erhaltenen Werte in der Regel niedriger liegen, hängt sicherlich mit dem Umstand zusammen, daß ich in allen Fällen mit einem unbestimmbaren Rest von 5 mg gerechnet habe, während die Untersuchungen gezeigt haben, daß dieser in der Regel etwas größer ist. Da diese Methode im Prinzip so voneinander verschieden sind, bürgt die Übereinstimmung der Resultate im großen dafür, daß das nachgewiesene Produkt Zitronensäure darstellt, und daß die Variationen, die mit diesen Methoden je für sich erhalten werden, durch Schwankungen des Zitronensäuregehaltes verursacht werden.

Aus Arbeiten, die mir erst nach Beendigung dieser Untersuchungen bekannt geworden sind (Hartmann und Hillig im Orig. Fasold, 1930 B) ergibt sich, daß einige Verbesserungen der Methodik leicht durchgeführt werden können. Fasold bringt in den Exsikkator zwei Schalen mit Pentabromazeton, um die Atmosphäre desselben damit zu sättigen und die Verdunstung des Niederschlages zu vermindern (außerdem läßt er die Oxydation bei Zimmertemperatur stattfinden, was seiner Ansicht nach größere Ausbeute gibt). Hartmann und Hillig verwenden beim Abfiltrieren des Pentabromazetonniederschlages das Filtrat zum Ausspülen des Kolbens und vermindert hierdurch den Verlust durch Lösen. Sie betonen außerdem die Bedeutung eines schnellen Arbeitens beim Filtrieren, sowie die Sorgfalt beim Abkühlen der Waschflüssigkeiten.

Kap. III. Die Ausscheidung der Zitronensäure durch die Nieren.

A. Die normale Zitronensäureausscheidung.

Die vorhandenen Literaturangaben betreffs der Größe der täglichen Zitronensäureausscheidung der Nieren beim gesunden Menschen sind ziemlich spärlich. Sie sind in Kap. I erwähnt worden und sollen hier nur in Kürze angegeben werden. Amberg und Mc Clure (1917) 0·440 bis 0·548 g; drei Personen. Mc Clure und Sauer (1922) 0·030 bis 0·431 g; 40 Kinder im Alter von 7 Monaten bis 14 Jahren. Östberg (1929) 0·23 bis 1·85 g; 25 Personen. (Wie in einer späteren Arbeit [1930] schon hervorgehoben worden ist, ist der hohe Wert hier nicht zur Gruppe der normalen Zitronensäureausscheidung zu rechnen, da er von einer Person herstammte, die Bikarbonat eingenommen hatte.) Fasold (1930 A) 0·237 bis 0·768 g; sechs Kinder.

Um zur Feststellung des normalen Wertes der täglichen Zitronensäureausscheidung durch den Harn beizutragen, sind Untersuchungen mit Thunbergs Methode an einer Anzahl vollkommen gesunder junger Männer (stud. med.), die von gemischter Kost lebten, vorgenommen

worden. 11 Personen wurden untersucht, jede wenigstens drei Tage hindurch. 50 Analysen wurden ausgeführt. Nur drei Analysen ergaben mehr als 1 g (alle am gleichen Individuum) und nur zwei weniger als 0·20 g (beide am gleichen Individuum). Das Maximum betrug 1·34 g, das Minimum 0·14 g, der Mittelwert 0·54 g. (Es soll hier neuerdings betont werden, daß alle hier mitgeteilten Resultate sich auf Zitronensäure mit 1 Mol. Kristallwasser beziehen. Zwecks Erhaltung der Menge wasserfreier Zitronensäure sind 8·57 Proz. des Wertes abzuziehen.) Ferner sind eine Anzahl Patienten der medizinischen Klinik untersucht worden, die keine Symptome für Stoffwechselstörungen, Fieber, Zirkulationsstörungen, Nieren- oder Blutkrankheiten aufgewiesen und die gewöhnliche Kost ohne extra Alkalien oder saure Stoffe erhalten haben. Mit Harn von 16 Frauen sind 21 Bestimmungen ausgeführt worden: Mittelwert 0·52 g, Maximum 1·08 g, Minimum 0·17 g. 9 Untersuchungen des Harns von 6 Männern haben bzw. Mittelwert 0·44 g, Maximum 0·64 g und Minimum 0·20 g gezeigt. Ein wesentlicher Unterschied zwischen Männern und Frauen scheint nicht zu bestehen. Auch gibt es keine regelmäßige Beziehung zwischen dem Körpergewicht und der Größe der Ausscheidung. Vereinigt man sämtliche hier angeführte Werte, erhält man als Normalwert (Mittelwert) 0·53 g per Tag, auf 80 Bestimmungen des Harns von 33 Personen in allen Altern (von 17 bis 78 Jahren) gestützt. Von diesen 80 Werten liegen nur vier über 1 g (von zwei Individuen) und nur drei unter 0·20 g (zwei Individuen). Der maximale Wert beträgt 1·34 g und der minimale 0·14 g.

Wo mehrere Bestimmungen am gleichen Individuum ausgeführt worden sind, zeigen die Werte in der Regel ziemlich kleine Schwankungen untereinander, dies auch wenn zwischen den verschiedenen Bestimmungen längere Zeiten verflossen sind. Sie liegen namentlich dann nahe einander, wenn die Kost reguliert worden ist, so daß keine größeren Variationen derselben von Tag zu Tag vorkommen. Dagegen können zwei Personen gleichen Alters und gleichen Geschlechts sowie ohne größeren Gewichtsunterschied, die vollkommen gleiche Nahrung erhalten und etwa dieselbe Arbeit leisten, einen großen Unterschied in der Ausscheidung von Zitronensäure aufweisen: der eine scheidet z. B. täglich ungefähr 0·20 g aus, der andere etwa 0·80 g.

Die Grenzen, innerhalb deren die normale Zitronensäureausscheidung im Harn wechselt, liegen also bei ungefähr 1 und 0·20 g per Tag. Werte, die sich etwas außerhalb dieser Grenze befinden, brauchen nicht pathologisch zu sein, sind aber unter normalen Verhältnissen selten. Der Mittelwert liegt bei 0·5 g. Die Zitronensäure (in der Form von Zitrat) ist also in der Tat nächst dem Harnstoff einer der am reichlichsten vorkommenden organischen Bestandteile des normalen Harns.

Um die Richtigkeit dieser Normalwerte zu kontrollieren und die Abweichungen von denselben zu studieren, wurden während der Zeit ein und eines halben Monats so gut wie alle in die medizinische Klinik eingelieferten Patienten, ohne Rücksicht auf die Diagnose, untersucht.

Aus der Beschreibung der Methode geht hervor, daß es viel einfacher ist, Antwort auf die Frage zu erhalten: Gibt es in dieser Flüssigkeit eine so und so große Menge Zitronensäure oder nicht? als auf die Frage: Wieviel Zitronensäure ist vorhanden? Zur Beantwortung der ersten Frage ist theoretisch nur eine Vakuumröhre erforderlich, die eine Anzahl Kubikmillimeter des Harns enthält, der bei Berechnung die nachgefragte Zitronensäuremenge geben sollte. Wird in dieser Röhre die Minimientfärbungszeit erhalten, so ist jene Menge vorhanden; erfordert die Entfärbung längere Zeit, so ist sie es nicht. Hierbei muß man jedoch beachten, daß in einer Röhre mit relativ großer Harnmenge die übrigen Harnbestandteile hemmend auf die Entfärbung wirken können, während eine kleinere Menge die Minimientfärbungszeit ergeben haben würde. Außerdem kann, zufolge des Umstandes, daß der Knick der Zitronensäurekurve zuweilen bei 4, zuweilen bei 5 Mikrogr. zu liegen pflegt, das berechnete Resultat nicht von Beginn an exakt bestimmt werden. Wenn man diese Einschränkungen berücksichtigt, mag indessen dieses Untersuchungssystem für Untersuchungen der hier in Rede stehenden Art sehr geeignet sein. Man benutzt zu jeder Untersuchung zwei Röhren. Je nach der Größe der Harntagesmenge werden die Harnmengen darin so abgewogen, daß, wenn die Minimientfärbungszeit in der Röhre mit der kleineren Menge erhalten wird, der Zitronensäuregehalt 0·80 bis 1·00 oder darüber beträgt, und daß, wenn man die gleiche Zeit nicht in der Röhre mit der größeren Menge erhält, der Zitronensäuregehalt unter 0·25 bis 0·20 g per Tag liegt. In jenen Fällen, wo der Zitronensäuregehalt außerhalb diesen Grenzen gefunden wird, werden in der Regel neue Untersuchungen mit genauen Bestimmungen vorgenommen.

In dieser Weise wurden 232 Patienten untersucht. 174 von ihnen zeigten Werte innerhalb der normalen Grenzen. In 12 Fällen lagen sie über 1 g. Ein einzelner Wert von 2·20 g stammte von einem Patienten mit Adipositas (Gewicht 150 kg), der fast ausschließlich von Frucht und Gemüsen lebte. Unter den übrigen elf betrug der höchste Wert 1·5 g, der an vier Individuen beobachtet worden ist. Drei von den zwölf Patienten wurden nur einmal untersucht, bei allen anderen entstanden bei erneuerten Untersuchungen Werte, die unter 1 g lagen. Diese Grenze scheint demnach nur ausnahmsweise überschritten zu werden. An 46 Patienten wurden Werte unter 0·20 g erhalten. 37 von diesen litten an solchen Krankheiten, die laut meinen übrigen Untersuchungen eine abnorm niedrige Zitronensäureausscheidung mit sich zu bringen pflegen. Von den übrigen neun wurde einer nur einmal untersucht, und ein 61jähriger Mann mit Cancer ventr. zeigte bei drei Untersuchungen keinen

Wert von über 0·20, aber keinen von unter 0·14 g. Alle übrigen hatten bei späteren Untersuchungen Werte über 0·20 g. Der angenommene Wert von 0·20 g als untere Grenze für die normale Zitronensäureausscheidung ist also der Hauptsache nach richtig.

Unter den in dieser Weise Untersuchten befanden sich Patienten mit organischen und funktionellen Nervenkrankheiten, Epilepsie, endokrinen Störungen wie Basedow, Myxödem, Adipositas, Mb. Addisoni, Neuralgien, Arthriten ohne allgemeine Beeinflussung, Fieberkrankheiten wie Malaria, Febris undulans, Angina, Influenza, Polyarthritis acuta, einfache Pleuriten, gelindere Formen von Tbc. pulm. et lymphogland., Asthma bronchiale, akute Hepatitis mit Ikterus, Cholelithiasis, Ulcus ventr. auch auf langdauernder strenger Kur, akute Colitis, Obstipation, Leukämien, maligne Tumoren, Ekzem und andere Hautkrankheiten usw.

Harnproben (von der hiesigen Gebäranstalt erhalten) von vier neugeborenen Kindern während der ersten Lebenstage wurden untersucht. Gegenüber der Spontanentfärbungszeit zeigten sie alle etwas oder ziemlich deutlich verminderte Entfärbungszeit, aber keiner von ihnen gab mit der gewöhnlichen Untersuchungstechnik die Minimientfärbungszeit. Es kann demnach wahrscheinlich erscheinen, daß der Harn von Neugeborenen sehr kleine Mengen von Zitronensäure (0·025 Promille nicht betragend) enthält, da aber die Minimientfärbungszeit nicht erreicht worden ist, kann dies nicht als erwiesen betrachtet werden.

Laut den im Kap. I erwähnten Untersuchungen über die Milch von verschiedenen Tieren, sowie Woods (1926—1927) Untersuchungen des Harns von Schweinen ist es wahrscheinlich, daß Zitronensäure unter den Säugetieren allgemeiner vorkommt. Um zur Kenntnis hierüber beizutragen, habe ich den Zitronensäuregehalt in einigen Harnproben von verschiedenen Tieren bestimmt. Bei allen untersuchten Arten wurde mit der Thunberg-Methode ein klar positives Resultat erhalten, d. h. es wurde die Minimientfärbungszeit erreicht, aber der Gehalt war erheblich niedriger als der für den Menschen übliche. Folgende Werte wurden gefunden: Pferd: 0·10 Promille. [In einer Probe von einem anderen Tier wurde nur eine unbedeutende Senkung der Entfärbungszeit gegenüber der Spontanentfärbungszeit erhalten; die kürzeste Entfärbungszeit wurde mit 40 cmm erhalten, bei größerer Harnmenge in der Vakuumröhre nahm die Zeit zu. Dies dürfte so zu deuten sein, daß einer (oder einige) der übrigen Harnbestandteile hemmend auf die Reaktion wirkt.] Kuh: 0·02 Promille. Schaf: 0·03 Promille. Schwein: 0·02 Promille. Kaninchen: 0·08 Promille. Meerschweinchen: 0·10 Promille. Ratte: 0·09 Promille (in einem Falle wurde nur eine unbedeutende Verkürzung der Entfärbungszeit erhalten, und die Werte schienen auf eine ähnliche Hemmungswirkung zu deuten, wie sie oben für eine der Proben vom Pferd erwähnt worden ist).

B. Schwankungen in der Zitronensäureausscheidung bei Zufuhr verschiedener Stoffe.

1. Frühere Untersuchungen.

Die Verbrennung der Zitronensäure im Körper ist 1856 von Piotrowski und Magawly zum Gegenstand der Untersuchungen gemacht worden. Laut diesen sollte eingenommene Zitronensäure im Körper zum größten Teile verbrannt werden und keine Ausscheidung in der Form von Alkali- oder Kalksalzen im Harn stattfinden. (Zitiert nach v. Vietinghoff-Scheel 1902.)

Beim Relatieren der älteren Literatur betreffs der toxischen Wirkungen der Zitronensäure führt v. Vietinghoff-Scheel weiter an, daß nach Moroschini und Wöhler die Zitronensäure in den Harn übergehen sollte, daß aber Untersuchungen von Buchheim diese Behauptung unwahrscheinlich gemacht haben.

Ohta (1912) teilt mit, er hat, laut nicht veröffentlichten Untersuchungen, gefunden, daß verabreichte Zitronensäure im Körper nicht vollkommen verbrannt wird. Die ersten genauen Untersuchungen über die Zitronensäureverbrennung, bei denen eine einigermaßen verläßliche Zitronensäurebestimmungsmethode zur Verwendung gelangt ist, sind die von Salant und Wise (1916) ausgeführten. Sie benutzten eine von ihnen selbst ausgearbeitete Methode, hauptsächlich im Anschluß an die von Denigès. Mit dieser prüften sie sowohl Blut wie Harn von Versuchstieren, Kaninchen, Katzen und Hunden, denen sie verhältnismäßig große Mengen Natriumzitrat teils per os, teils mit Injektionen gegeben hatten. Bezüglich der Blutuntersuchungen geben sie selbst an, daß die Methode nur approximativ ist, da beim Ausfällen des Eiweißes ein Teil Zitrat mitfolgt. Direkte Blutproben enthielten keine Zitronensäure. Von zu Blut gerade zugesetztem Zitrat wurden 60 bis 106 Proz. wiedergefunden. Für die Harnuntersuchungen dürfte die Methode etwas sicherer sein, und da auf kleinere Differenzen kein größeres Gewicht gelegt zu werden braucht, mag das prinzipielle Resultat der Untersuchung sicherlich anerkannt werden. Nach Zufuhr per os zu Kaninchen von 2 g per kg Körpergewicht wurden in 15 ccm Blut nach drei Stunden 3·3 mg gefunden; 5 g per kg gaben in gleicher Weise 6 mg. Im Harn, der sich nach größeren Dosen Zitrat alkalisch zeigte, konnten nach Zufuhr von 3 g per kg nur kleine Mengen entdeckt werden. Harnuntersuchungen nach noch größeren Dosen waren unausführbar, da die Tiere derartige nicht mehr als einige Stunden überlebten.

Bei subkutaner Injektion von 0·5 bis 1·0 g Zitrat per kg fanden sich in 15 ccm Blut nach $^1/_2$, 1 und 2 Stunden 8 bis 9 mg wieder. Nach Injektion von 1 g per kg wurden im Verlaufe des nächsten Tages zwischen

0·136 und 0·616 g schwankende Zitronensäuremengen, oder, im Verhältnis zu der injizierten Menge berechnet, 6·8 bis 28 Proz. im Harn ausgeschieden. Die Zitratausscheidung wurde niemals nach Ablauf der nächsten 24 Stunden nach der Injektion beobachtet. Einige Versuche mit subkutanen Injektionen an Katzen und Hunden sprechen dafür, daß bei diesen Tieren eine größere Ausscheidung durch die Nieren erfolgt.

Bei intravenöser Injektion an Kaninchen von 50 bis 60 mg per kg wurden im Blut nach 3 bis 5 Minuten 10 bis 15 Proz. der injizierten Menge wiedergefunden. An Hunden waren nach Injektion von 100 mg per kg 60 bis 70 Proz. nach 20 Sekunden aus dem Blute verschwunden, und nach 5 bis 10 Minuten hatte der Zitratgehalt desselben weiter um 10 bis 20 Proz. abgenommen. Bei iterierten Injektionen zeigte es sich, daß das Zitrat erheblich längere Zeit in der zirkulierenden Blutmasse verblieb, indem die Zitratmengen in den Proben, die nach entsprechenden Zeiten genommen wurden, größer waren. Um zu entscheiden, ob das Verschwinden des Zitrats aus dem Blute auf einer Destruktion desselben in der Blutmasse beruhte, wurden Versuche in vitro mit Zusatz von Zitrat zu Blut gemacht. 70 bis 80 Proz. von diesem waren während den nächsten Stunden bis zu einem Tage regelmäßig wiederzufinden. Von der intravenös injizierten Menge wurden durch die Nieren 4 bis 13 Proz. bei einer Dosis von 0·5 g per kg und 1·5 bis 2·0 Proz. bei 0·35 g per kg ausgeschieden. Nach 0·1 g per kg erschien im Harn kein Zitrat. Die Untersuchungen sprechen dafür, daß zugeführtes Zitrat in der Regel zum allergrößten Teil verbrannt wird.

Zu ähnlichen Resultaten kam Woods (1926—1927) beim Füttern von Schweinen mit großen Mengen Zitrat und Zitronensäure. Normal fand er im Harn von denselben (9 bis 30 kg) „einen kleinen Teil eines Gramms". Wenn das Futter mit großen Quantitäten Zitrat nebst Zitronensäure versetzt wurde, resultierte daraus eine Zunahme der Ausscheidung, die indessen nicht konstant verblieb, was als eine Gewöhnung gedeutet wurde. Auch bei einer großen Dosis wie 4 g per kg wurden nur 0·5 g ausgeschieden. Die Totalmenge organische Säuren im Harn zeigte keine Parallelität mit der Zitronensäuremenge.

Blatherwick und Long (1922) untersuchten, wie die Ausscheidung von organischen Säuren, nach van Slyke und Palmer (1920) bestimmt, an zwei Versuchspersonen durch einen Zusatz zur Standardkost von großen Mengen Apfelsinensaft verändert wurde. Eine Menge von bis zu 2400 ccm Apfelsinensaft, die laut Berechnung einen Zitronensäuregehalt von 2 Proz. hatte, gab eine Vermehrung der organischen Säuren im Harn um etwa 400 ccm n/10-Säure. Unter der Annahme, daß diese Vermehrung hauptsächlich auf eine Ausscheidung von Zitronensäure beruhen sollte, wurde berechnet, daß 2·71 g, d. h. 6 Proz. der zugeführten Säure der Oxydation

entgangen und durch die Nieren abgeschieden worden waren. Da hier keine direkte Bestimmung der Zitronensäure zur Ausführung gelangt ist, und die Parallelität zwischen der Totalausscheidung organischer Säuren (laut van Slyke und Palmer) und der Zitronensäureausscheidung nicht bewiesen ist, kann ein sicherer Schlußsatz betreffs des Verhaltens dieser Säure auf Grund des Versuches nicht gezogen werden. Dasselbe gilt für eine ähnliche Untersuchung, die von Hottinger (1925) aufgeführt worden ist. Er gab zwei 10jährigen Kindern 3 bzw. 6 g Ammoniumzitrat, traf aber keine darauffolgende Zunahme der Menge organischer Säuren im Harn an. Einem Säugling von 5 kg Gewicht gab er 5 g Ammoniumzitrat und fand darauf eine Zunahme der organischen Säuren, die 3 bis 5 Proz. der Zitratmenge, als n/10-Säure berechnet, entsprach.

Levi (1928) studierte auch die Veränderungen des Harns von Versuchstieren bei länger dauernder Zufuhr von Zitronensaft. Eine Einstellung auf das Problem des Zitronensäuregehaltes des Harns hatte er indessen nicht. Er beobachtete eine Zunahme der Phosphate und besonders der Chloride. Die Harnmengen wurden größer, die Indikanreaktion, die von Beginn an positiv war, wurde allmählich negativ. Die Reaktion des Harns zeigte sich bei den Kaninchen die ganze Zeit hindurch alkalisch, bei den Hunden wurde sie von sauer zu alkalisch verändert.

Hinsichtlich des Zitronensäuregehaltes der Milch sind von Scheibe (1891) Versuche vorgenommen worden, um durch eine Veränderung der Nahrungszufuhr denselben zu beeinflussen. Ziegen, die täglich eine ungefähr konstante Menge gewöhnlichen Futters erhielten, zeigten ziemlich große Variationen im Zitronensäuregehalt ihrer Milch. Nach Zufuhr einer Zitronensäuremenge, die 40mal größer als jene war, die durch die Milch ausgeschieden wurde, wurde die Zitronensäureausscheidung durch die Milchdrüsen nicht vergrößert; sie wurde auch nicht durch Hunger oder stark verminderter Nahrungszufuhr oder bei Verabreichung von Futter, das laut Berechnung so gut wie frei von Zitronensäure sein sollte, vermindert.

In bezug auf den Menschen sind bisher keine Versuche mit wirklicher Bestimmung des Zitronensäuregehaltes des Harns nach Zufuhr von größeren Dosen vorgenommen worden.

2. Eigene Untersuchungen.

Die Mehrzahl meiner hier erwähnten Zitronensäurebestimmungen sind mit dem Harn von Versuchspersonen ausgeführt, an denen zu anderem Zwecke Stoffwechseluntersuchungen von Med. lic. Hans Silwer, stellvertretendem klinischen Laborator der Medizinischen Klinik, vorgenommen worden sind. Er hat mir in entgegenkommender Weise die Werte für pH und H_3N für E. S., P. M., H. G., K. R., A. B., A. G., C-A. E., F. L., G. S., G. H. und E. E. zur Verfügung gestellt. Ich benutze die Gelegenheit

Med. lic. Silwer hier für sein freundliches Entgegenkommen vielen Dank zu sagen. Alle Ammoniakbestimmungen sind nach Ljungdahl (1922) ausgeführt worden.

Zufolge des Vorkommens der Zitronensäure in den Nahrungsmitteln, namentlich in Früchten und Beeren, dürfte dem Körper mit einer gemischten Kost eine geringe Menge Zitronensäure zugeführt werden. Es wäre denkbar, daß die mit dem Harn ausgeschiedene Zitronensäure direkt von der genossenen herstammte. Um zur Beantwortung dieser Frage beizutragen, sind in ein paar Fällen relativ große Mengen Zitronensäure per os gegeben, und die Zitronensäureausscheidung bei im übrigen gleichen Bedingungen teils mit, teils ohne Zitronensäurezufuhr registriert worden. Die Resultate stehen nicht vollkommen eindeutig da (Fig. 7 bis 11 mit Tabellen). Bei Zitronensäuredosen von 10 bis 15 g wurde in einem Fall (O. Ö. 9. bis 10. IV., Fig. 7) eine mäßig erhöhte Ausscheidung erhalten, in einem anderen (E. Sch. 30. IV. bis 2. V., Fig. 8) am ehesten eine Abnahme. Dosen von 30 g pro die hatten in einem Fall eine deutlich

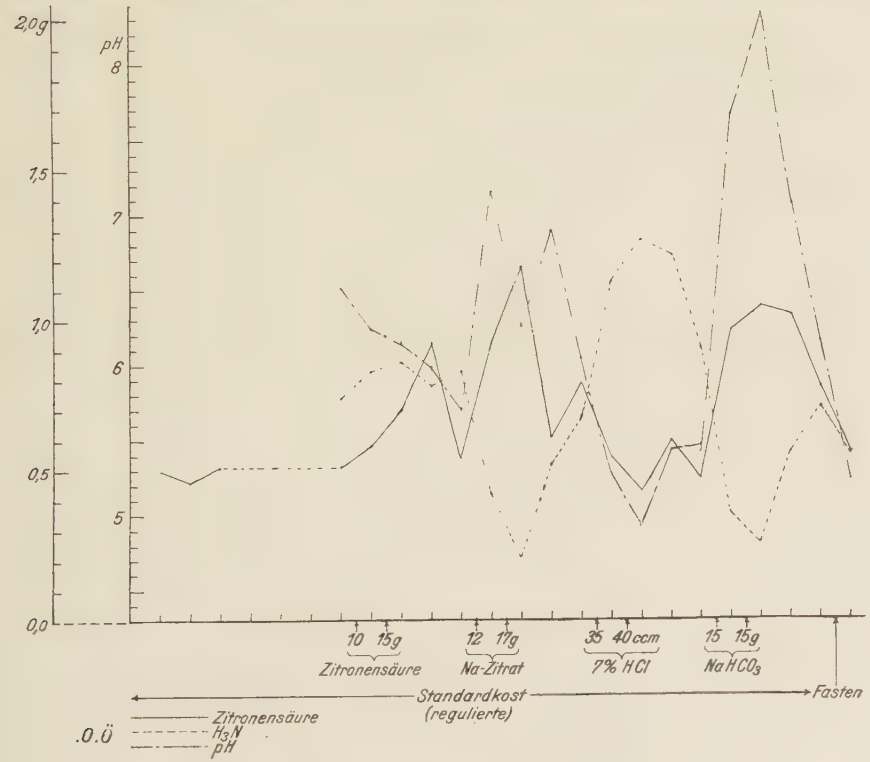


Fig. 7.

O. Ö. Siehe Fig. 7.

Datum	Diät	H_2N	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
3. IV.	Standard-Kost (reguliert)			1400	0·50	
4.	„			1600	0·46	
5.	„			900	0·51	
9.	„	0·74	6·52	1030	0·515	
10.	„ + 10 g Zitronensäure	0·83	6·25	1450	0·58	
11.	„ + 15 g Zitronensäure	0·86	6·14	1270	0·70	
12.	„	0·78	5·99	1180	0·92	
13.	„	0·83	5·71	870	0·54	
14.	„ + 12 g Na-Zitrat	0·42	7·16	770	0·92	
15.	„ + 17 g Na-Zitrat	0·21	6·27	590	1·18	
16.	„	0·52	6·90	760	0·61	
17.	„	0·68	6·04	950	0·79	
18.	„ + 35 ccm 7proz. HCl	1·13	5·28	2150	0·54	
19.	„ + 40 ccm 7proz. HCl	1·27	4·93	1440	0·43	
20.	„	1·22	5·43	1440	0·60	
21.	„	0·91	5·47	1030	0·47	
22.	„ + 15 g $NaHCO_3$	0·36	7·67	880	0·97	
23.	„ + 15 g $NaHCO_3$	0·26	8·36	1260	1·05	
24.	„	0·56	7·08	1430	1·02	
25.	„	0·71	6·16	1390	0·78	
26.	Fasten	0·56	5·23	840	0·56	

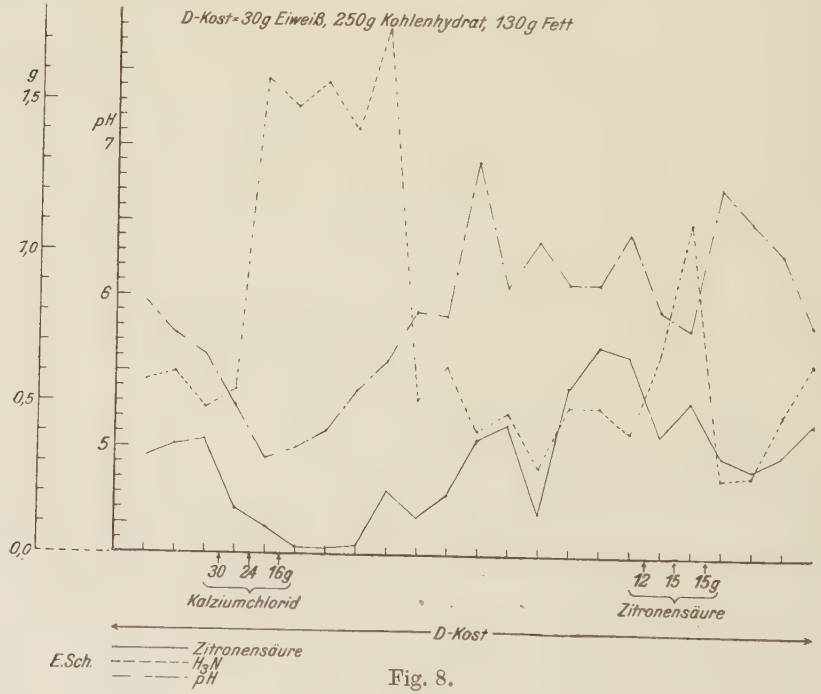


Fig. 8.

E. Sch. Siehe Fig. 8.

Datum	Diät	H_3N	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
13. IV.	D-Kost	0·57	5·97	1400	0·32	
14.	„	0·60	5·75	1300	0·36	
15.	„	0·48	5·61	1000	0·375	
16.	„ + 30 g $CaCl_2$	0·54	5·28	900	0·15	
17.	„ + 24 g $CaCl_2$	1·57	4·93	2100	0·10	
18.	„ + 16 g $CaCl_2$	1·48	5·00	1300	0·026	
19.	„	1·56	5·12	1100	0·022	
20.	„	1·41	5·38	1600	0·032	
21.	„	1·74	5·57	1800	0·21	
22.	„	0·51	5·90	1000	0·125	
23.	„	0·62	5·88	1400	0·20	
24.	„	0·41	6·90	1600	0·38	
25.	„	0·47	6·07	1200	0·43	
26.	„	0·29	6·37	1000	0·14	
27.	„	0·49	6·09	1600	0·55	
28.	„	0·49	6·09	1600	0·69	
29.	„	0·41	6·32	1500	0·66	
30.	„ +12 g Zitronensäure	0·67	5·92	1800	0·40	
1. V.	„ +15 g Zitronensäure	1·10	5·80	1800	0·51	
2.	„ +15 g Zitronensäure	0·26	6·73	1000	0·33	
3.	„	0·27	6·51	1000	0·29	
4.	„	0·47	6·30	1100	0·34	
5.	„	0·64	5·83	1400	0·44	

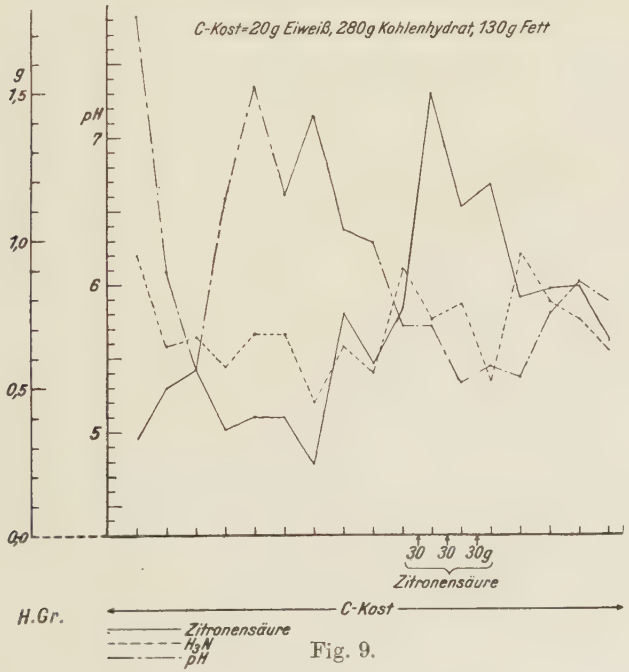


Fig. 9.

H. Gr. Siehe Fig. 9.

Datum	Diät	H_3N	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
13. VIII.	C-Kost	0·95	7·82	1600	0·33	
14.	„	0·64	6·09	1400	0·50	
15.	„	0·67	5·42	1800	0·56	
16.	„	0·57	6·58	1900	0·36	
17.	„	0·68	7·34	1600	0·40	
18.	„	0·68	6·61	1600	0·40	
19.	„	0·45	7·14	1900	0·24	
20.	„	0·64	6·37	1800	0·75	
21.	„	0·55	6·28	1400	0·58	
22.	„	0·90	5·71	1700	0·77	
23.	„ +30 g Zitronensäure	0·73	5·71	1800	1·50	
24.	„ +30 g Zitronensäure	0·78	5·33	2000	1·11	
25.	„ +30 g Zitronensäure	0·52	5·44	1900	1·19	
26.	„	0·95	5·37	1600	0·80	
27.	„	0·79	5·8	1500	0·83	
28.	„	0·73	6·01	1350	0·84	
29.	„	0·62	5·88	1300	0·65	

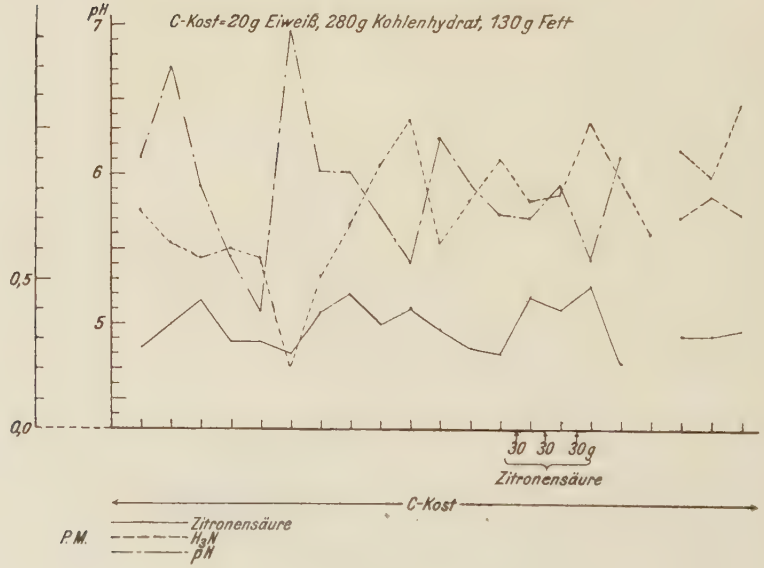


Fig. 10.

P. M. Siehe Fig. 10.

Datum	Diät	H_3N	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
9. VIII.	C-Kost	0·73	6·11	1600	0·27	
10.	„	0·62	6·71	1400	0·35	
11.	„	0·57	5·92	1200	0·43	
12.	„	0·60	5·45	800	0·29	
13.	„	0·57	5·09	1400	0·29	
14.	„	0·21	6·95	900	0·25	Übelkeit
15.	„	0·51	6·02	1100	0·39	(Erbrechen)
16.	„	0·68	6·01	1500	0·45	
17.	„	0·88	5·71	1400	0·35	
18.	„	1·03	5·41	1600	0·40	
19.	„	0·62	6·24	1400	0·33	
20.	„	0·76	5·94	1600	0·27	
21.	„	0·90	5·73	1600	0·25	
22.	„ +30 g Zitronensäure	0·76	5·71	1600	0·44	
23.	„ +30 g Zitronensäure	0·78	5·92	1700	0·40	
24.	„ +30 g Zitronensäure	1·02	5·43	1500	0·475	
25.	„	0·65	6·11	1600	0·22	
26.	„	—	—	—	—	
27.	„	0·93	5·71	1825	0·31	
28.	„	0·84	5·85	1300	0·31	
29.	„	1·08	5·73	1600	0·33	

gesteigerte Ausscheidung zur Folge, von 0·78 auf 1·5 g (H. G. 23. bis 25. VIII., Fig. 9), in einem anderen (P. M. 22. bis 24. VIII., Fig. 10) wurde eine weniger sichtbare Erhöhung beobachtet. In einem fünften Fall (K. R., Fig. 11) folgte auf die Einnahme von 40 (10. bis 11. VI.) bzw. 30 g (16. bis 18. VI.) pro die in Perioden von 2 bzw. 3 Tagen während jeder eine etwas verringerte Zitronensäureausscheidung. Gleichzeitig mit diesen Abnahmen wurde ein deutliches Sinken des pH des Harns sowie eine deutliche Zunahme der Ammoniakausscheidung beobachtet, alles Anzeichen von Maßnahmen seitens des Organismus zur Aufrechterhaltung des Säurebasengleichgewichts bei der Anwesenheit von Faktoren, die dieses Gleichgewicht nach der sauren Seite hin zu verschieben suchen. Daß die eingenommene Zitronensäure in diesem Fall ein derartiger Faktor gewesen ist, kann als sicher erachtet werden, da andere solche fehlen, und die Veränderungen im Harn bei beiden Gelegenheiten prompt auf die Zitronensäureeinnahme gefolgt haben. Daß andererseits die Zitronensäureausscheidung bei einer Störung des Säurebasengleichgewichtes in saurer Richtung vermindert wird, ist eine regelmäßig beobachtete Erscheinung, die später erörtert werden soll. (Man sollte also das paradoxale Verhältnis registrieren können, daß auf eine vergrößerte Zufuhr eines Stoffes eine Verminderung der Ausscheidung desselben folgt.) In dem

Fall, wo eine Erhöhung der Harnzitronensäure auf die Einnahme folgte, wurde eine weniger deutliche Senkung des pH des Harns beobachtet, während das Ammoniak nicht zu-, sondern abnahm. In dem Fall (P. M., Fig. 10), wo 30 g Zitronensäure per os eine unsichere Zunahme der Zitronensäureausscheidung zur Folge hatten, zeigten sich die Veränderungen im pH des Harns und des Ammoniakgehaltes erst am dritten Tage.

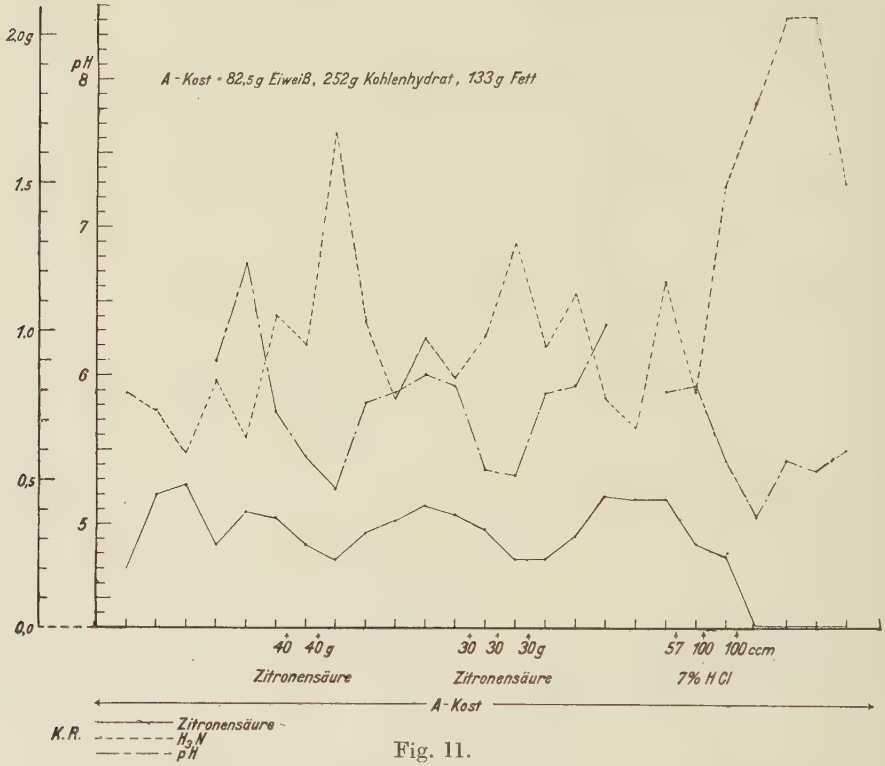


Fig. 11.

Gegenüber großen Mengen Zitronensäure scheinen in bezug auf die Reaktionsweise individuelle Variationen zu bestehen. In den Fällen, wo die Zitronensäure das Säurebasengleichgewicht beeinflußt, tritt eine verminderte Ausscheidung ein; wird kein solcher Effekt die Folge, kann es zu einer erhöhten Zitronensäureausscheidung kommen. Im Harn wird jedoch nur ein geringer Bruchteil der Säure wiedergefunden.

Wenn man, zwecks Vermeidung einer Säurewirkung, das Zitration als Alkalisalz zuführt, erhält man eine deutliche und ziemlich starke Erhöhung der Zitronensäureausscheidung (O. Ö. 14. bis 15. IV., Fig. 7). Die Wirkung in diesem Fall dürfte teils auf der großen Zitratmenge

beruhen, ist aber teils auch eine Alkaliwirkung, gleichgestellt mit derjenigen, die mit Bikarbonat erhalten wird. Diese letztere gibt sich in einer Erhöhung des pH des Harns und einer Senkung der Ammoniakausscheidung, die auf die Einnahme von Na-Zitrat folgen, zu erkennen.

K. R. Siehe Fig. 11.

Datum	Diät	H_3N	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
4. VI.	A-Kost	0·79	—	1400	0·19	
5.	„	0·73	—	1600	0·45	
6.	„	0·59	—	2300	0·48	
7.	„	0·83	6·09	2200	0·275	
8.	„	0·64	6·75	2100	0·39	
9.	„	1·05	5·75	2000	0·37	
10.	„ +40 g Zitronensäure	0·95	5·45	2000	0·28	
11.	„ +40 g Zitronensäure	1·66	(5·23)	1400	0·23+	Durchfall nm.
12.	„	1·03	5·81	1900	0·32	Durchfall vm.
13.	„	0·77	5·88	1800	0·36	
14.	„	0·97	6·0	2200	0·41	
15.	„	0·84	5·92	1600	0·38	
16.	„ +30 g Zitronensäure	0·98	5·36	1800	0·33	
17.	„ +30 g Zitronensäure	1·29	5·32	1900	0·23	
18.	„ +30 g Zitronensäure	0·94	5·87	1900	0·23	
19.	„	1·12	5·92	2000	0·31	
20.	„	0·77	6·33	2200	0·44	
21.	„	0·67	—	1800	0·43	
22.	„	1·16	5·88	1800	0·43	
23.	„ +57 ccm 7proz. HCl	0·79	5·92	2200	0·275	
24.	„ +100 ccm 7proz. HCl	1·48	5·42	2900	0·24	
25.	„ +100 ccm 7proz. HCl	1·76	5·04	2800	Spuren	
26.	„	2·05	5·42	1800	Spuren	
27.	„	2·05	5·35	1400	Spuren	
28.	„	1·49	5·49	2500	Spuren	
4. VII.	—	—	—	—	0·25 Promille	

Die hier genannten Zitronensäuremengen sind ja im Vergleich mit den in der täglichen Kost vorhandenen sehr groß. Da so reiche Mengen häufig gar keine Erhöhung der Zitronensäureausscheidung zur Folge haben, dürfte der Körper ein gutes Vermögen besitzen, Zitronensäure abzubauen. Das Vorkommen der Zitronensäure im Harn ist also unter gewöhnlichen Verhältnissen sicherlich nicht durch ein Unvermögen, die Zitronensäure in der Nahrung zu verbrennen, bedingt.

Diese Untersuchungen stimmen gut mit den Tierversuchen überein, die von Salant und Wise (1916), sowie von Woods (1926—927) ausgeführt worden sind.

Thunberg hat in so gut wie allen Geweben des Tierorganismus das Vorkommen von Enzymen nachgewiesen, die er als Dehydrogenasen cha-

rakterisiert hat. Eine Reihe solcher, von denen ein Teil spezifisch dehydrierende Wirkung auf verschiedene organische Säuren besitzt, sind beobachtet worden. Es wird angenommen, daß mit Hilfe dieser Enzyme der Abbau der organischen Säuren im Organismus stattfindet. Auch zitronensäurespaltende Enzyme sind in den meisten tierischen Geweben gefunden worden (Thunberg 1911 A, 1911 B, 1926, 1930 u. a.). Batelli und Stern (1911) haben ebenfalls gezeigt, daß Zitronensäure von isoliertem tierischem Gewebe, am stärksten von der Muskulatur, der Leber und den Nieren, vollständig verbrannt wird. Eine aus der Leber von Ochs, Schwein oder Schaf durch Azetonextrahierung gewonnene Zitricodehydrogenase ist besonders von Bernheim (1928) studiert worden. Er fand, daß sie eine ausgeprägte Spezifität für Zitronensäure besitzt. Sie zeigte in Mb-Versuchen keine Dehydrierung von Bernstein-, Äpfel-, Fumar-, Milch-, Wein-, Ameisen-, Glutamin-, Malein-, Essig-, α-Oxybutter-, Oxal- und Saccharinsäure oder Azetaldehyd. Aconitsäure, welche die der Zitronensäure entsprechende ungesättigte Säure darstellt, gab statt dessen Hemmung.

Im Organismus gibt es demnach spezifisch zitronensäurespaltende Enzyme. Die große Leichtigkeit, mit der der Körper Zitronensäure verbrennt, ist also nicht geeignet, Erstaunen zu erwecken. Die Theorie liegt nahe zur Hand, daß die Zitronensäure ein normales intermediäres Stoffwechselprodukt darstellt, für dessen weiteren Abbau das allgemeine Vorkommen eines spezifischen Enzyms erforderlich ist. Der Umstand, daß Zitronensäure in den meisten Flüssigkeiten des Organismus als ein normaler Bestandteil, sicherlich von der von außen zugeführten Zitronen-

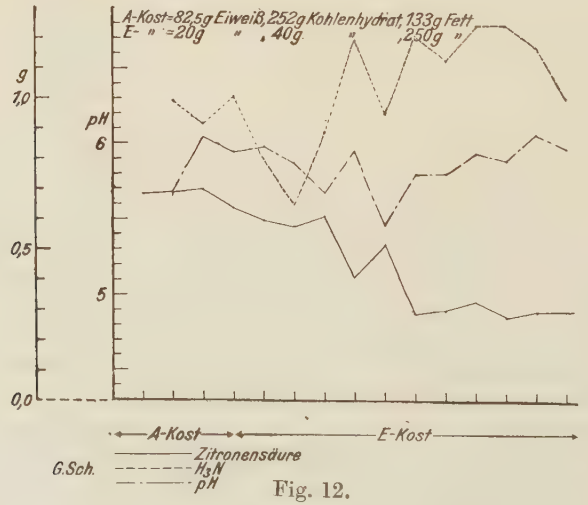


Fig. 12.

G. Sch. Siehe Fig. 12.

Datum	Diät	H_3N	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
9. III.	A-Kost	—	5·66	860	—	
10.	„	0·99	5·68	860	0·69	
11.	„	0·92	6·04	870	0·70	
12.	„	1·01	5·95	800	0·64	
13.	E-Kost	0·80	5·98	1050	0·60	
14.	„	0·65	5·88	580	0·58	
15.	„	0·89	5·68	610	0·61	
16.	„	1·19	5·95	660	0·41	
17.	„	0·95	5·47	630	0·52	
18.	„	1·21	5·81	470	0·29	
19.	„	1·13	5·81	540	0·30	
20.	„	1·24	5·95	550	0·33	
21.	„	1·25	5·90	510	0·28	
22.	„	1·18	6·07	500	0·30	
23.	„	1·01	5·99	500	0·30	

säure unabhängig, angetroffen wird, spricht dafür, daß ihre Bildung ziemlich allgemein stattfindet.

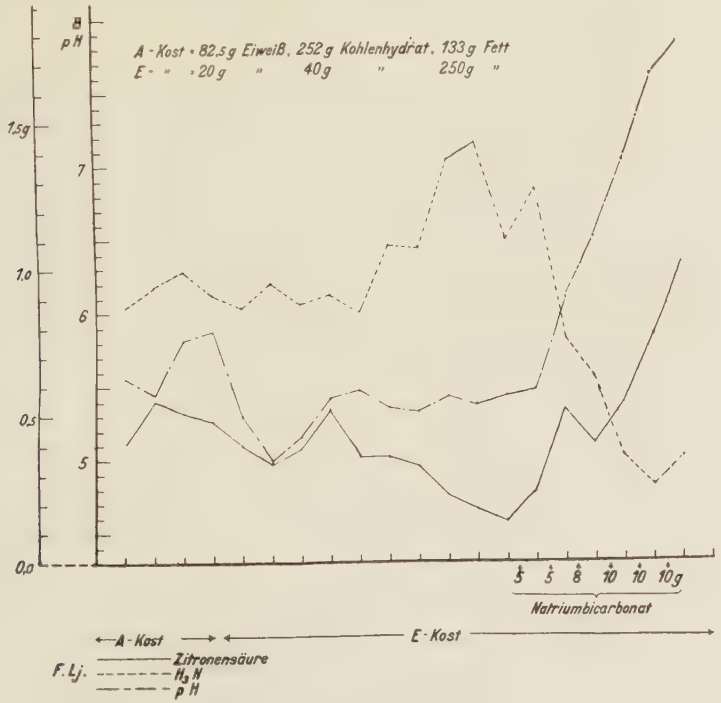


Fig. 13.

F. Lj. Siehe Fig. 13.

Datum	Diät	H_3N	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
9. III.	A-Kost	0·87	5·56	1025	0·41	
10.	„	0·94	5·45	960	0·55	
11.	„	0·99	5·81	760	0·51	
12.	„	0·91	5·87	970	0·485	
13.	E-Kost	0·87	5·30	710	0·40	
14.	„	0·95	5·00	860	0·34	
15.	„	0·88	5·16	1015	0·39	
16.	„	0·91	5·42	840	0·525	
17.	„	0·85	5·47	440	0·36	
18.	„	1·08	5·36	730	0·365	
19.	„	1·07	5·33	800	0·33	
20.	„	1·37	5·43	770	0·23	
21.	„	1·43	5·38	1200	0·18	
22.	„	1·10	5·43	720	0·14	
23.	E-Kost + 5 g $NaHCO_3$	1·27	5·47	1000	0·24	
24.	„ + 5 g $NaHCO_3$	0·76	6·09	610	0·52	
25.	„ + 8 g $NaHCO_3$	0·63	6·51	730	0·405	
26.	„ +10 g $NaHCO_3$	0·36	7·03	670	0·54	
27.	„ +10 g $NaHCO_3$	0·26	7·62	770	0·77	
28.	„ +10 g $NaHCO_3$	0·36	7·84	680	1·02	

Außer durch Zufuhr von Zitronensäure kann die Zitronensäureausscheidung durch Verschiedenheit der Nahrung geändert werden. Bei der Petrénschen Diabeteskost, „Fett und Gemüse", die nur kleine Mengen von Kohlehydraten und Eiweißstoffen enthält, tritt allmählich eine Verminderung ein (G. Sch. Fig. 12). Diese geht parallel mit einer Senkung des pH und einer Zunahme des Ammoniakgehaltes des Harns, welche Veränderungen ja in jenen Fällen durch die Kohlehydratkarenz verursacht werden. Wenn man mittels Eingabe von Natriumbikarbonat diese Wirkung der Kohlehydratkarenz aufhebt, ohne daß die Verhältnisse in irgend einer anderen Weise geändert werden, tritt eine Erhöhung der Zitronensäureausscheidung promt ein, und gleichzeitig steigt das pH und sinkt der Ammoniakgehalt (F. Lj. Fig. 13, E. E. Fig. 14, G. H. Fig. 15). Hieraus geht mit Wahrscheinlichkeit hervor, daß es die Schwankungen im Säure-Basen-Gleichgewicht des Organismus sind, die den Zitronensäuregehalt des Harns beeinflussen; die Wirkung der Kostveränderung ist durch eine Störung dieses Gleichgewichtes verursacht worden.

Durch die Verabreichung von Natriumkarbonat schon zu Beginn der Kohlehydratkarenz kann man verhindern, daß es zu einem Sinken der Zitronensäureausscheidung kommt. Mit größeren Dosen Bikarbonat wird eine Erhöhung derselben erhalten. Wenn darauf bei andauernder

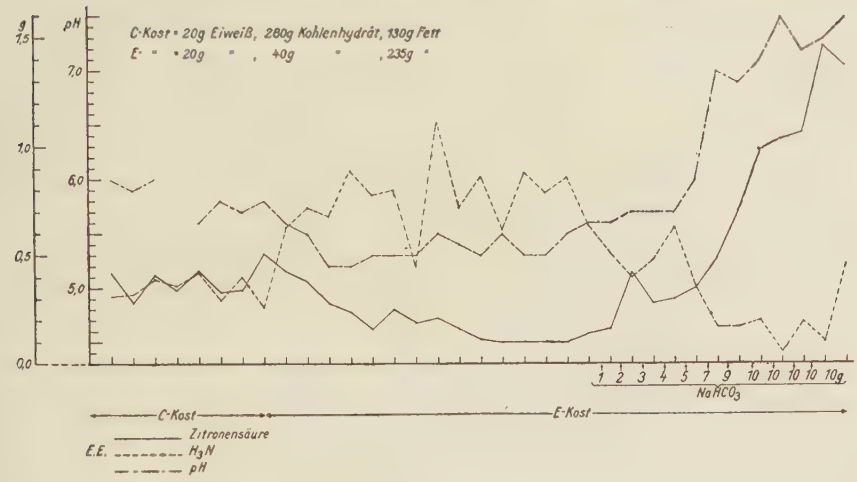


Fig. 14.

E. E. Siehe Fig. 14.

Datum	Diät	H_3N g	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
9. XI.	C-Kost	0·31	6·0	1100	0·42	
10.	„	0·32	5·9	800	0·28	
11.	„	0·39	6·0	1140	0·41	
12.	„	0·36	—	1210	0·34	
13.	„	0·42	5·6	1200	0·43	
14.	„	0·29	5·8	1250	0·33	
15.	„	0·40	5·7	1350	0·34	
16.	E-Kost	0·26	5·8	910	0·51	
17.	„	0·63	5·6	1550	0·43	
18.	„	0·72	5·5	900	0·38	
19.	„	0·68	5·2	1350	0·28	
20.	„	0·89	5·2	1300	0·24	
21.	„	0·78	5·3	1200	0·16	
22.	„	0·80	5·3	1200	0·25	
23.	„	0·45	5·3	1300	0·19	
24.	„	1·11	5·5	1350	0·21	
25.	„	0·72	5·4	1300	0·16	
26.	„	0·86	5·3	1000	0·11	
27.	„	0·62	5·5	1300	0·10	
28.	„	0·88	5·3	1000	0·10	
29.	„	0·79	5·3	1000	0·10	
30.	„	0·86	5·5	750	0·10	

E. E. (Fortsetzung.)

Datum	Diät	H_3N g	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
1. XII.	E-Kost	0·64	5·6	1000	0·14	
2.	E-Kost + 1 g $NaHCO_3$	0·51	5·6	750	0·16	
3.	„ + 2 g $NaHCO_3$	0·40	5·7	1500	0·42	
4.	„ + 3 g $NaHCO_3$	0·48	5·7	1400	0·28	
5.	„ + 4 g $NaHCO_3$	0·63	5·7	850	0·30	
6.	„ + 5 g $NaHCO_3$	0·36	6·0	1400	0·35	
7.	„ + 7 g $NaHCO_3$	0·17	7·0	1225	0·49	
8.	„ + 9 g $NaHCO_3$	0·17	6·9	1250	0·71	
9.	„ +10 g $NaHCO_3$	0·20	7·1	1100	0·99	
10.	„ +10 g $NaHCO_3$	0·05	7·5	1250	1·04	
11.	„ +10 g $NaHCO_3$	0·19	7·2	1340	1·07	
12.	„ +10 g $NaHCO_3$	0·10	7·3	1470	1·47	
13.	„ +10 g $NaHCO_3$	0·46	7·5	1650	1·38	

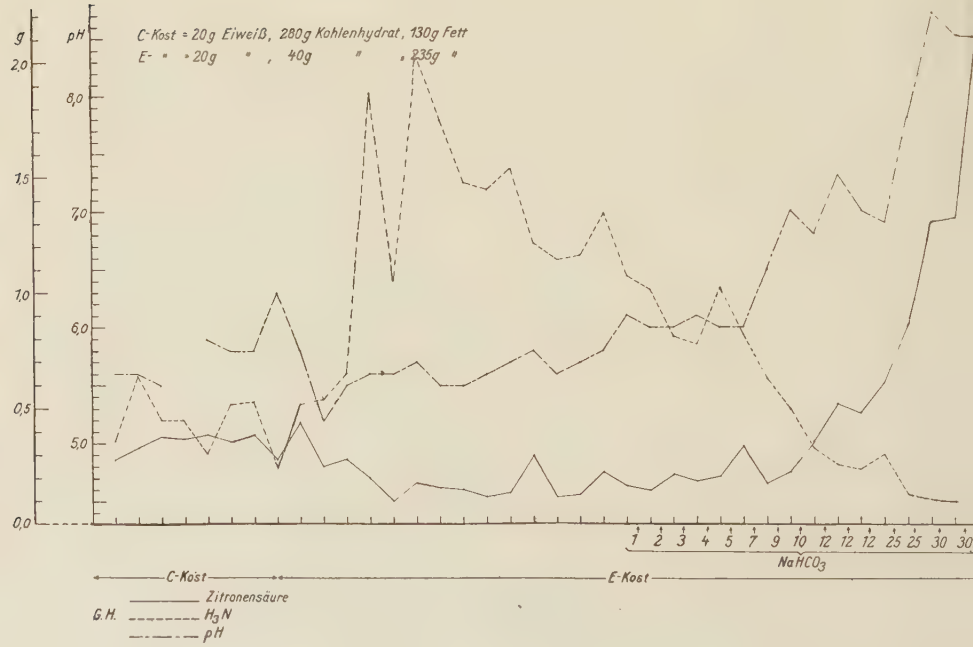


Fig. 15.

G. H. Siehe Fig. 15.

Datum	Diät	H_3N g	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
9. XI.	C-Kost	0·36	5·6	1000	0·28	
10.	„	0·64	5·6	930	0·33	
11.	„	0·45	5·5	1050	0·38	
12.	„	0·45	—	1030	0·37	
13.	„	0·31	5·9	1100	0·39	
14.	„	0·52	5·8	1500	0·36	
15.	„	0·53	5·8	1250	0·39	
16.	E-Kost	0·25	6·3	800	0·28	
17.	„	0·52	5·8	1600	0·44	
18.	„	0·54	5·2	750	0·25	
19.	„	0·65	5·5	1160	0·28	
20.	„	1·86	5·6	1100	0·20	
21.	„	1·05	5·6	600	0·10	
22.	„	2·03	5·7	760	0·18	
23.	„	1·74	5·5	1040	0·16	
24.	„	1·47	5·5	1100	0·15	
25.	„	1·44	5·6	750	0·12	
26.	„	1·53	5·7	1000	0·14	
27.	„	1·21	5·8	610	0·30	
28.	„	1·14	5·6	650	0·12	
29.	„	1·16	5·7	630	0·13	
30.	„	1·34	5·8	950	0·23	
1. II.	„	1·07	6·1	800	0·17	
2.	E-Kost + 1 g $NaHCO_3$	1·01	6·0	700	0·15	
3.	„ + 2 g $NaHCO_3$	0·81	6·0	1050	0·22	
4.	„ + 3 g $NaHCO_3$	0·78	6·1	920	0·19	
5.	„ + 4 g $NaHCO_3$	1·02	6·0	900	0·21	
6.	„ + 5 g $NaHCO_3$	0·82	6·0	1350	0·34	
7.	„ + 7 g $NaHCO_3$	0·63	6·5	1050	0·18	
8.	„ + 9 g $NaHCO_3$	0·50	7·0	1550	0·23	
9.	„ +10 g $NaHCO_3$	0·33	6·8	720	0·36	
10.	„ +12 g $NaHCO_3$	0·26	7·3	1290	0·52	
11.	„ +12 g $NaHCO_3$	0·24	7·0	1155	0·48	
12.	„ +12 g $NaHCO_3$	0·30	6·9	1470	0·61	
13.	„ +25 g $NaHCO_3$	0·13	7·8	1080	0·86	
14.	„ +25 g $NaHCO_3$	0·11	8·7	1300	1·30	
15.	„ +30 g $NaHCO_3$	0·10	8·5	1220	1·32	
16.	„ +30 g $NaHCO_3$	0·05	8·5	1150	2·20	

Kohlehydratkarenz kein weiteres Bikarbonat verabreicht wird, tritt, gleichzeitig mit dem Auftreten von anderen Zeichen für Säureüberschuß, eine plötzliche und starke Senkung des Zitronensäuregehaltes des Harns auf subnormale Werte ein (A. G. Fig. 16, CA. E. Fig. 17, A. B. Fig. 18).

Auch durch die Zufuhr von sauren Stoffen wird eine Senkung des Zitronensäuregehaltes des Harns erhalten. Die Einnahme von 7 Proz. HCl in Mengen von 57, 100 und 100 ccm an drei aufeinanderfolgenden Tagen bewirkte eine Verminderung der Zitronensäureausscheidung von

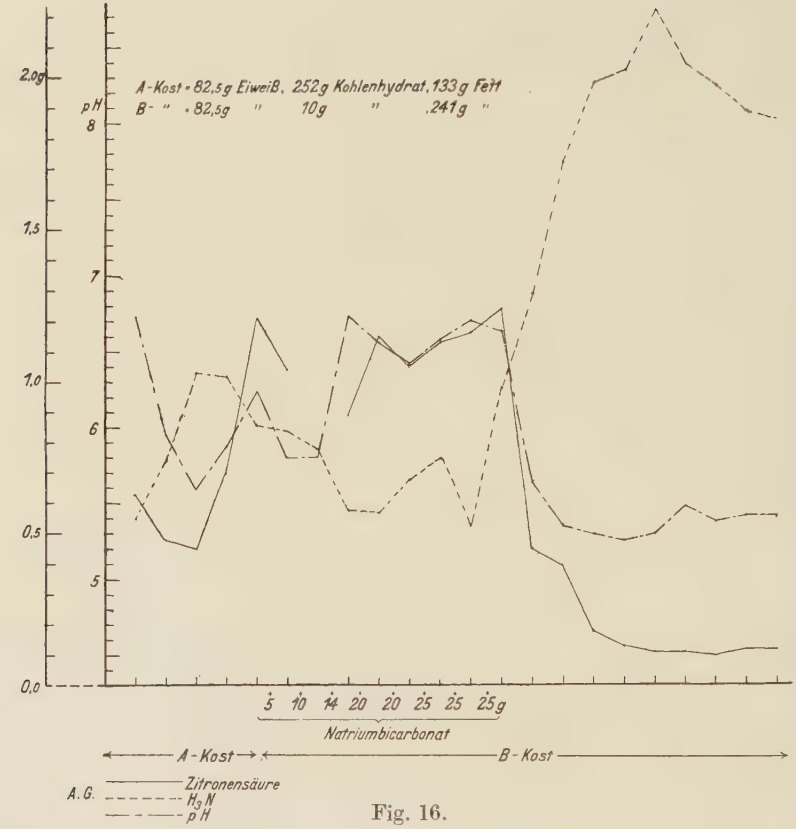


Fig. 16.

A. G. Siehe Fig. 16.

Datum	Diät	H_3N g	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
8. IV.	A-Kost	0·55	6·73	1125	0·63	
9.	„	0·74	5·95	2300	0·48	
10.	„	1·03	5·59	1080	0·45	
11.	„	1·02	5·88	1400	0·70	
12.	„	0·86	6·23	1210	1·21	
13.	B-Kost + 5 g $NaHCO_3$	0·84	5·81	1050	1·05	
14.	„ +10 g $NaHCO_3$	0·78	5·81	880	—	
15.	„ +14 g $NaHCO_3$	0·58	6·73	1030	0·89	
16.	„ +20 g $NaHCO_3$	0·57	6·56	1150	1·15	
17.	„ +20 g $NaHCO_3$	0·68	6·42	1260	1·05	

A. G. (Fortsetzung).

Datum	Diät	H_3N g	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
18. IV.	B Kost +25 g $NaHCO_3$	0·75	6·58	1580	1·13	
19.	„ +25 g $NaHCO_3$	0·53	6·70	1160	1·16	
20.	„ +25 g $NaHCO_3$	0·98	6·63	1750	1·24	
21.	B-Kost	1·29	5·64	1120	0·45	
22.	„	1·72	5·36	1600	0·40	
23.	„	1·98	5·30	1060	0·18	
24.	„	2·02	5·26	850	0·13	
25.	„	2·22	5·30	860	0·11	
26.	„	2·04	5·49	890	0·11	
27.	„	1·97	5·38	850	0·10	
28.	„	1·89	5·42	940	0·12	
29.	„	1·87	5·42	950	0·12	

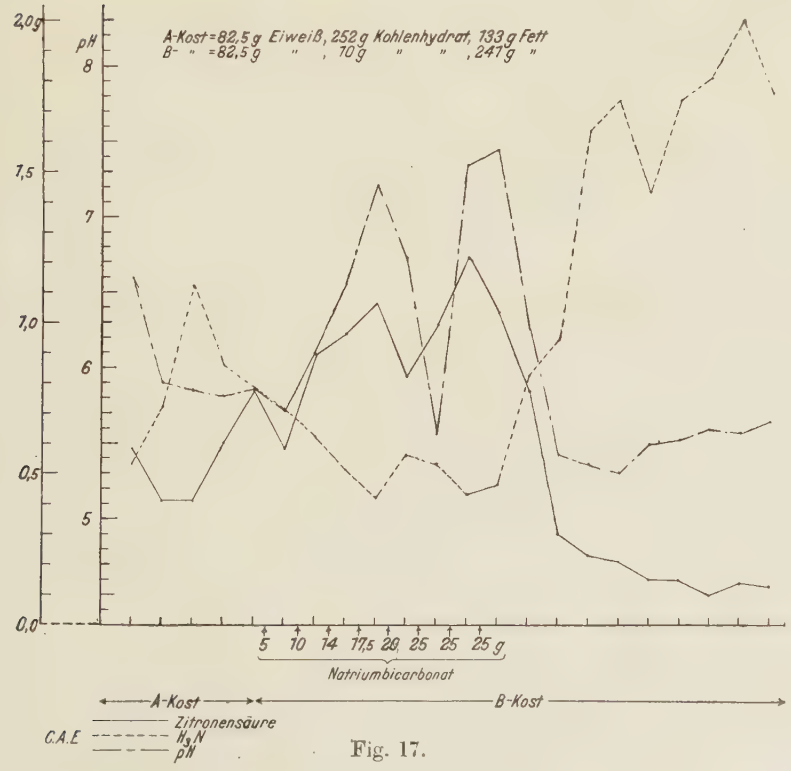


Fig. 17.

C. A. E. Siehe Fig. 17.

Datum	Diät	H_3N g	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
8. IV.	A-Kost	0·53	6·59	920	0·58	
9.	„	0·72	5·90	1460	0·41	
10.	„	1·12	5·85	1400	0·41	
11.	„	0·86	5·81	800	0·60	
12.	„	0·78	5·85	880	0·77	
13.	B-Kost + 5 g $NaHCO_3$	0·71	5·71	930	0·58	
14.	„ +10 g $NaHCO_3$	0·62	6·09	890	0·89	
15.	„ +14 g $NaHCO_3$	0·51	6·56	960	0·96	
16.	„ +17·5 g $NaCHO_3$	0·42	7·20	960	1·06	
17.	„ +20 g $NaHCO_3$	0·56	6·72	990	0·82	
18.	„ +25 g $NaNCO_3$	0·53	5·56	1190	0·99	
19.	„ +25 g $NaHCO_3$	0·43	7·34	1210	1·21	
20.	„ +25 g $NaHCO_3$	0·46	7·44	1190	1·03	
21.	B-Kost	0·82	6·25	1150	0·77	
22.	B-Kost + 3 Teelöffel Honig	0·94	5·42	850	0·30	
23.	B-Kost	1·63	5·36	1000	0·23	
24.	„	1·73	5·31	900	0·21	
25.	„	1·43	5·49	750	0·15	
26.	„	1·73	5·52	770	0·15	
27.	„	1·80	5·59	750	0·10	
22.	„	1·99	5·51	860	0·14	
29.	„	1·75	5·64	650	0·13	

etwa 0·40 g bis auf Werte unter der bestimmbaren Grenze (K. R. 23. bis 25. VI. u. w. Fig. 11). In einem anderen Fall verursachte $CaCl_2$ per os in Dosen von 30, 24 und 16 g an drei aufeinanderfolgenden Tagen eine ebenso starke Senkung (E. Sch. 16. bis 18. VI. Fig. 8) und in einem dritten (J. L. Fig. 19) folgte auf die tägliche Einnahme von 8 g H_4NCl an 6 Tagen gleichfalls ein so gut wie vollständiges Aufheben der Zitronensäureausscheidung. In allen Fällen verblieb der Zitronensäuregehalt mehrere Tage hindurch auf jenem niedrigen Niveau, um dann erst allmählich wieder auf das normale zurückzukehren. In keinem Fall ist dieses Sinken bei Zufuhr von stark sauren Stoffen ausgeblieben (siehe auch die Tabellen im Kap. II C, Figg. 4 bis 6). Die Senkung der Harnzitronensäure unter normale Werte, die in Fällen von diabetischer Acidosis beobachtet worden ist, stimmt auch mit den experimentell gefundenen Verhältnissen überein.

Ebenso deutlich wie ein Überschuß von Säure eine Senkung des Zitronensäuregehaltes des Harns verursacht, bringt die Zufuhr von Alkalien eine Erhöhung desselben hervor. Der in letzterer Absicht benutzte Stoff ist das Natriumbikarbonat. (Wie schon erwähnt worden ist, ist die Wirkung von Natriumzitrat hierbei mit der des Bikarbonats gleich-

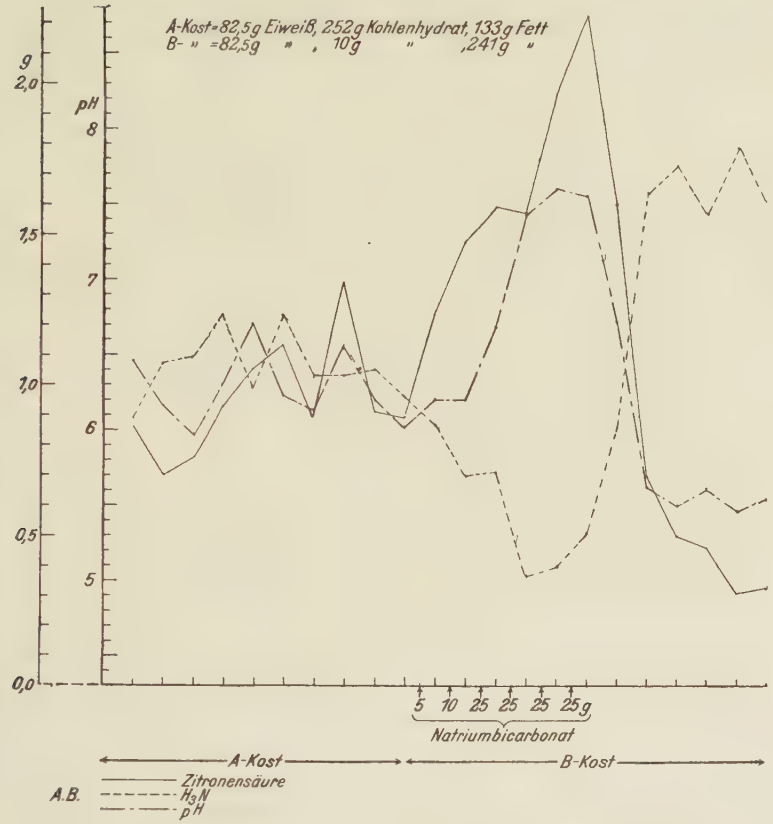


Fig. 18.

A. B. Siehe Fig. 18.

Datum	Diät	H_3N g	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
8. IV.	A-Kost	0·89	6·46	1070	0·86	
9.	„	1·07	6·16	1400	0·70	
10.	„	1·09	5·97	1070	0·76	
11.	„	1·23	6·30	1090	0·93	
12.	„	0·99	6·70	900	1·05	
13.	„	1·23	6·23	1360	1·13	
14.	„	1·03	6·13	890	0·89	
15.	„	1·03	6·54	1340	1·34	
16.	„	1·05	6·20	1210	0·91	
17.	„	0·96	6·02	1070	0·89	

A. B. (Fortsetzung.)

Datum	Diät	H_3N g	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
18. IV.	B-Kost + 5 g $NaHCO_3$	0·87	6·20	980	1·23	
19.	„ +10 g $NaHCO_3$	0·70	6·20	900	1·47	
20.	„ +25 g $NaHCO_3$	0·71	6·68	1220	1·59	
21.	„ +25 g $NaHCO_3$	0·37	7·43	1570	1·57	
22.	„ +25 g $NaHCO_3$	0·40	7·60	1790	1·97	
23.	„ +25 g $NaHCO_3$	0·51	7·55	1780	2·225	
24.	B-Kost	0·86	6·72	1450	1·60	
25.	„	1·64	5·62	1250	0·70	
26.	„	1·73	5·50	1070	0·50	
27.	„	1·57	5·62	765	0·46	
28.	„	1·79	5·47	770	0·31	
29.	„	1·61	5·54	650	0·325	

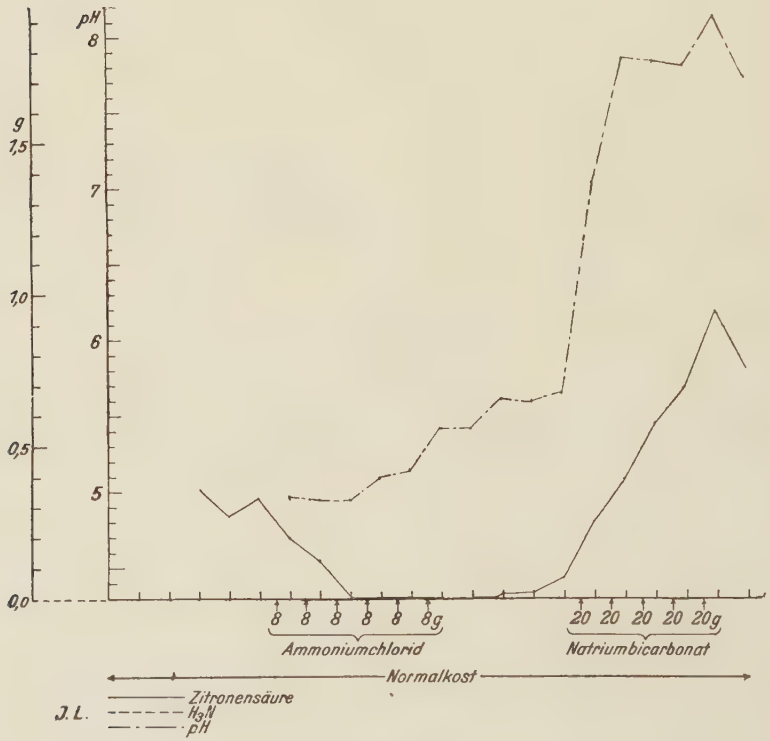


Fig. 19.

J. L. Siehe Fig. 19.

Datum	Diät	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Anmerkungen
6. VII.	Normalkost, nicht	—	550	0·34	
7.	streng reguliert, aber	—	500	0·31	
8.	ohne größere Ver-	—	500	—	
9.	schiedenheiten	—	500	0·36	
10.		—	600	0·27	
11.		—	600	0·33	
12.	8 g $(H_4N)Cl$	4·97	500	0·20	
13.	8 g $(H_4N)Cl$	4·95	500	0·125	
14.	8 g $(H_4N)Cl$	4·95	800	Spuren	
15.	8 g $(H_4N)Cl$	5·09	600	Spuren	
16.	8 g $(H_4N)Cl$	5·14	600	Spuren	$CO_2 = 44$ Proz.
17.	8 g $(H_4N)Cl$	5·42	600	Spuren	
18.		5·42	500	Spuren	
19.		5·61	500	0·015	
20.		5·59	600	0·018	
21.		5·64	400	0·067	
22.	20 g $NaHCO_3$	7·02	800	0·25	
23.	20 g $NaHCO_3$	7·84	1100	0·39	
24.	20 g $NaHCO_3$	7·82	1400	0·57	
25.	20 g $NaHCO_3$	7·79	1100	0·69	
26.	20 g $NaHCO_3$	8·12	1100	0·94	
27.		7·71	900	0·75	

zustellen.) In jedem Fall, wo Natriumkarbonat in nicht allzu kleinen Dosen, 10 g oder mehr, während einigen Tagen zugeführt worden ist, ist eine deutliche Steigerung der Zitronensäureausscheidung erhalten worden. Auf diese Weise hat eine Erhöhung von bis zu 2 g Zitronensäure per Tag erhalten werden können. Die Versuche sind nicht in absurdum getrieben worden, um die maximale Menge festzustellen, die auf diese Weise erreicht wird. Die erhaltenen Werte können den mitgeteilten Kurven und Tabellen entnommen werden (O. Ö. Fig. 7, F. Lj. Fig. 13, E. E. Fig. 14, G. H. Fig. 15, A. G. Fig. 16, CA. E. Fig. 17, A. B. Fig. 18, J. L. Fig. 19, sowie die Tabellen in Kap. II C Figg. 4 bis 6).

Kap. IV. Die Rolle der Zitronensäureausscheidung im Dienste der Säure-Basen-Regulierung.

Die Schwankungen der Zitronensäureausscheidung durch die Nieren im Anschluß an die Schwankungen des Säure-Basen-Haushalts des Körpers läßt, was Deutlichkeit und Regelmäßigkeit betrifft, nichts zu wünschen übrig. Bei gesteigerter Zufuhr oder erhöhter Bildung von Säuren oder sauren Substanzen im Organismus wird die Zitronensäureausscheidung vermindert, während sie bei erhöhter Zufuhr von Alkalien vergrößert

wird. Dies ist von mir sowohl mit der Thunbergschen wie mit der Pentabromazetonmethode gezeigt worden (Östberg 1930). (Vollständig unabhängig hat Fasold, 1930 A und B die gleiche Observation gleichzeitig gemacht.)

Bei einer Beobachtung wie dieser liegt es natürlich nahe zur Hand, der in Rede stehenden Schwankung zweckdienliche Bedeutung zuzuschreiben, sie vom teleologischen Gesichtspunkt zu betrachten. Solchenfalls ist sie den übrigen Maßnahmen des Organismus gleichzustellen, deren sich dieser zur Aufrechterhaltung seiner Neutralität gegenüber Faktoren bedient, die auf das Säure Basen Gleichgewicht störend einwirken. Hierhergehörige Erscheinungen sind seit mehr als einem halben Jahrhundert Gegenstand des Interesses gewesen und haben namentlich während den letzten Dezennien Anlaß zu einer enormen Literatur gegeben. Diese braucht für den Zweck dieser Arbeit nicht in ihrer Gänze berührt zu werden. Es sei auf einige ältere grundlegende Arbeiten sowie auf einige neuere Zusammenstellungen verwiesen, die die hier besonders diskutierten Verhältnisse berühren: Hasselbalch 1912, Henderson und Palmer 1914, van Slyke und Gullen 1917, van Slyke 1921, Bigwood 1925, Odin 1927, Mainzer und Joffe 1928 und Mainzer 1929 A.

Laut der allgemein anerkannten Theorie nimmt die Wasserstoffionenkonzentration des Blutes eine Zentralstellung ein; die reaktiven Maßnahmen laufen auf die Bewahrung der Integrität derselben aus.[1] Und hierzu trägt die Mehrzahl der Organe und Funktionen des Körpers bei, das Blut, die Atmung, die Zirkulation, die Leber, das Nervensystem, die Haut, der Zellenstoffwechsel. Zum Streben nach Wiederherstellung normaler Verhältnisse gehört außerdem die Elimination aus dem Körper von Stoffen, die das Gleichgewicht störend beeinflußt haben, entweder diese in unverändertem Zustand ausgeschieden, oder durch andere Maßnahmen des Körpers neutralisiert werden. Die Organe, durch die dies stattfinden kann, sind die Lungen, die Nieren und in gewissem Maße auch der Darmkanal. Durch die Lungen können nur flüchtige Stoffe eliminiert werden, und es ist hier praktisch genommen nur die Kohlensäureausscheidung, die neutralitätsregulierende Bedeutung besitzt. Bei Acidosis können kleinere Mengen anderer flüchtiger Stoffe abgegeben werden (Azeton). Daß der Darm für diese Regulation Belang hat, ist u. a. von

[1] Diese Theorie ist jedoch nicht für alle Störungen im Säure-Basen-Gleichgewicht gültig. Es gibt Formen von Acidosis, bei denen das pH des Blutes abnorm niedrige Werte aufweist, ohne daß die Kompensationshilfsmittel ausgenützt werden. Dies kann bei der Nephritis-Acidosis sowie bei der Acidosis nach Zufuhr von $CaCl_2$ der Fall sein, was besonders von Salvesen (1929) hervorgehoben wird. Als Arbeitshypothese ist sie jedoch von großem Wert gewesen, und als solche wird sie hier angeführt.

Löffler (1926) nachgewiesen worden, der bei Zufuhr von sauren oder alkalischen Stoffen per os oder parenteral eine schnell eintretende Veränderung der cH in den Fäzes feststellte. Es ist jedoch von relativ untergeordneter Bedeutung.

Den Nieren kommt im neutralitätsregulierenden Zusammenspiel eine große Rolle zu. Normal produzieren sie einen sauren Harn mit einem mittleren pH-Wert von um 6. Schon unter normalen Verhältnissen schwankt dieser Wert ziemlich weit, und bei pathologischen Störungen liegen die Grenzen desselben unter 4 und um oder über 8. Da der Harn mehrere Puffersysteme enthält, können also beträchtliche Mengen saurer oder basischer Elemente auf diesem Wege eliminiert werden. Das Verhältnis zwischen Säure und Base im Harn bildet den regulierenden Faktor. Bei einem drohenden Säureüberschuß im Organismus wird dieses Verhältnis größer, bei Alkaliüberschuß kleiner. Abweichungen vom Normalen bedeuten demnach immer eine Zunahme der einen Komponente bei einer gleichzeitigen wenigstens relativen Abnahme der anderen. Deshalb spricht man von einer Säureausscheidung und einer Alkaliersparung als Maßnahmen gegen eine abnorme Säureanhäufung im Körper, sowie im entgegengesetzten Fall von einer Alkaliausscheidung und einer Säureersparung. Mit Beibehaltung der Forderungen an Zweckmäßigkeit müssen unter allen Umständen von allzu reichlicher Ausscheidung solche Stoffe geschützt werden, die für den Organismus notwendig sind (von denen der Orgnaismus eine gewisse „Reserve" zur Verfügung haben muß), und die nicht „unbegrenzt vorhanden sind". Hierunter werden die „fixen" Kationen und Anionen verstanden, hauptsächlich K, Na, Ca, Mg, Cl, P, S. Der wichtigste Mechanismus, der dem Organismus hierfür zur Gebote steht, ist der theoretisch unbegrenzte Zugang zu einer flüchtigen Base, Ammoniak, und einer flüchtigen Säure, Kohlensäure, die überdies zusammen den für das Säure Basen Gleichgewicht irrelevanten Harnstoff bilden können (Mainzer und Joffe, 1928).

Der Harn enthält, wie erwähnt, mehrere Puffersysteme, d. h. Mischungen von Säuren oder Basen und ihren Salzen, hierin auch Mischungen der Salze mehrbasischer Säuren einbegriffen. Durch das Zusammenwirken der gegenseitigen Verhältnisse zwischen Säure und Salz in diesen verschiedenen Puffersystemen wird nun die Wasserstoffionenkonzentration des Harns bestimmt, und von dieser ihrerseits kann gesagt werden, daß sie für die Verteilung zwischen Säure und Salz in dem einzelnen Puffersystem signifikativ ist. Die wichtigsten der Systeme, die innerhalb der Grenzen für die Wasserstoffionenkonzentration des Harns in Frage kommen, sind: Kohlensäure-Bikarbonat, primäres-sekundäres Phosphat, organische Säuren — ihre Salze. In bezug auf alle

derartigen Systeme gilt, daß sie in dem Maße, wie das Verhältnis Säure : Salz (oder in bezug auf die Phosphate primäres-sekundäres Salz) im Harn größer ist als im Blute, säureausscheidend, alkaliersparend wirken; ist das genannte Verhältnis dagegen im Harn kleiner als im Blut, treten sie als alkaliausscheidend, säureersparend auf.

Je nachdem der Körper von einem Überschuß an sauren oder alkalischen Stoffen bedroht wird, kann der Gehalt im Harn an den verschiedenen Systemen geändert werden, So wird die Bikarbonatausscheidung bei Alkalizufuhr erhöht, was namentlich von Mainzer und seinen Mitarbeitern studiert worden ist. Mainzer hebt hervor (1929 B), daß bei Kohlensäure-Bikarbonat-Analysen im Harn nach Zufuhr von Bikarbonat nicht die Ausscheidung der zugeführten Substanz studiert wird, sondern der Effekt auf die Nierenfunktion, den die Störung des Säure–Basen–Gleichgewichts mit sich bringt.

Die Phosphatausscheidung wird dagegen bei einem Überschuß von Säure im Organismus gesteigert, was von Fitz, Alsberg und Henderson (1907) gezeigt und später von einer Mehrzahl Untersucher (Fitz und van Slyke 1917, J. B. S. Haldane 1921, Stehle und Mac Curty 1921, Gambel und Ross 1923, Fölling 1929) verifiziert worden ist. Goiffon (1928) fand teils eine erhöhte Phosphatausscheidung bei Fällen von Acidosis, teils auch in der Regel eine verminderte solche bei Zufuhr von Alkali.

Die Ausscheidung organischer Säuren im Harn und dessen Veränderung bei verschiedenen Bedingungen sind, namentlich während des letzten Dezenniums, Gegenstand mehrerer Untersuchungen gewesen. Im Jahre 1920 wurde nämlich von van Slyke und Palmer (1920) eine relativ einfache Methode zur Bestimmung der organischen Säuren angegeben. Nach Zusatz von $Ca(OH)_2$, das Karbonate und Phosphate ausfällt, wird das Filtrat mit n/10-Säure von pH 8 bis pH 2·7 titriert. Alle organischen Säuren, deren Vorkommen im Harn bekannt ist, sind bei pH 8 in der Form von Salzen und bei pH 2·7 in der Form von freier Säure vorhanden. Eine Korrektion für Aminosäuren, Kreatin und Kreatinin, welche die erforderliche Menge Säure erhöhen, muß vorgenommen werden. In der Quantität organischer Säuren, die mit dieser Methode (und auch mit älteren Methoden) bestimmt wird, befindet sich auch die Zitronensäure, jedenfalls der größte Teil derselben (etwa 90 Proz. van Slyke und Palmer). Die Normalwerte der täglichen Ausscheidung organischer Säuren im Harn, die von van Slyke und Palmer (1920) angegeben und später von anderen Untersuchern (Blatherwick und Long 1922, Goiffon und Nepveux 1922, Labbé, Bith und Nepveux 1922, McLaughlin und Blunt 1923–1924) bestätigt worden sind, liegen bei 300 bis 600 ccm n/10-Säure. Wenn der Mittelwert der

täglichen Zitronensäureausscheidung zu 0·5 g angenommen wird und 90 Proz. davon bei der Titration nach van Slyke und Palmer bestimmt werden, entspricht dies einem Wert von 64 ccm n/10-Säure. Die Zitronensäure scheint demnach einen quantitativ bedeutenden Teil der organischen Säuren des Harns auszumachen. Laut diesen Berechnungen sollten auf dieselbe 11 bis 21 Proz. der Totalmenge kommen, wahrscheinlich variiert das Verhältnis aber innerhalb erheblich weiterer Grenzen.

Es ist daher von großem Interesse, jene Untersuchungen betreffs der Schwankungen der Menge organischer Säuren zu studieren, die unter den Bedingungen ausgeführt worden sind, die laut meinen Untersuchungen Veränderungen im Zitronensäuregehalt des Harns mit sich bringen.

Bei Acidosis wird die Ausscheidung organischer Säuren erhöht. Diese Steigerung dürfte im allgemeinen durch die Ketonkörper, hauptsächlich β-Oxybuttersäure, aber bisweilen auch durch andere bisher unbekannte Säuren verursacht werden (Goiffon und Nepveux 1922, Labbé, Bith und Nepveux 1922, Goiffon 1923). Kraft meiner Untersuchungen kann ich bestimmt verneinen, daß die Zitronensäure hierbei in Frage kommt. Bei Zufuhr von $NaHCO_3$ per os fanden Goiffon und Nepveux (1922), daß der Gehalt des Harns an organischen Säuren nicht abnahm. Goiffon (1925), beobachtete, daß Dosen von 5 g $NaHCO_3$ per Tag eine leichte Erhöhung verursachten; 15 g (mit später sinkenden Dosen) gaben eine starke Vermehrung, wenigstens eine Verdoppelung. Diese Erhöhung trat unmittelbar ein und fehlte in keinem der untersuchten Fälle. Die Erscheinung ist von Goiffon (1928) ferner bestätigt worden.

Die Zunahme des Zitronensäuregehaltes, die ich in allen Fällen bei Zufuhr von $NaHCO_3$ gefunden habe, stimmt mit Goiffons Beobachtung gut überein. Doch kann die ganze Zunahme der organischen Säuren nicht der Zitronensäure zugeschrieben werden, da auch eine so große Zitronensäuremenge wie 2·2 g bei der Bestimmung von organischen Säuren nicht mehr als etwa 280 ccm n/10-Säure entspricht. Außerdem ist auch für die Milchsäure gezeigt worden, daß eine Vermehrung der Ausscheidung bei der Zufuhr von Karbonat oder Bikarbonat stattfindet (Mc Leod und Knapp 1918–1919). Obgleich diese Zunahme der Milchsäure deutlich ist, sind jedoch die Mengen gering. Die höchsten Werte, die in den Versuchen von Mc Leod und Knapp erhalten wurden, waren: Vor der Bikarbonatgabe 90 mg, nach derselben 234 mg, d. h. eine Zunahme von 10 auf 26 ccm n/10-Säure. Auch wenn diese Bestimmungen nicht quantitativ sind, ist es wahrscheinlich, daß bei der Zufuhr von Bikarbonat auch andere organische Säuren in erhöhter Menge ausgeschieden werden. In den interessanten Untersuchungen von

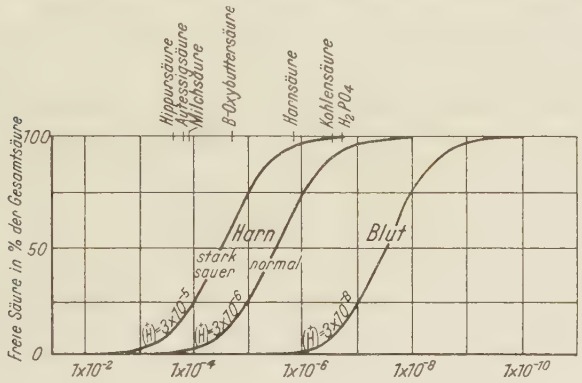
Fasold (1930 B) zeigten nach Bikarbonatzufuhr außer der Zitronensäure auch die Hippursäure und die flüchtigen organischen Säuren eine erhöhte Ausscheidung. Die Zitronensäure betrug hierbei bis zu 40 Proz. des Totalwertes für die organischen Säuren.[1]

Je nach dem Wert der Wasserstoffionenkonzentration des Harns wechselt das Verhätlnis zwischen freier Säure und Salz für die organischen Säuren, und dieses Verhältnis ist für jede Säure nach dem Wert ihrer Dissoziationskonstante charakteristisch. Je größer die cH ist, um so größer ist für sämtliche Säuren die genannte Relation: für die einzelne Säure ist sie um so größer, je niedriger ihre Dissoziationskonstante ist. Im Blute sind alle in Frage stehenden Säuren praktisch genommen vollkommen neutralisiert, d. h. sie kommen hier in der Form ihrer Salze vor. Die Anwesenheit freier Säuren im Harn ist daher ein Zeichen einer direkten Säureausscheidung, was ja eine Ersparnis von Alkali bedeutet. Für die Dissoziationskonstanten der Zitronensäure werden folgendeWerte angegeben: Von Hasting und van Slyke (1922) $K_1 = 8{\cdot}3 \times 10^{-4}$, $K_2 = 4{\cdot}1 \times 10^{-5}$, $K_3 = 3{\cdot}2 \times 10^{-6}$, von Auerbach und Smolczyk (1924) $K_1 = 1{\cdot}03 \times 10^{-3}$, $K_2 = 2{\cdot}53 \times 10^{-5}$, $K_3 = 1{\cdot}51 \times 10^{-6}$.

Laut dem Diagramm für die Verteilung von schwachen Säuren zwischen freier Säure und Salz in Blut und Harn, das von Henderson und Spiro (1909) angeführt worden ist, findet man, daß, wenn man in diesem die Lage der Dissoziationskonstanten der Zitronensäure markiert, die Zitronensäure im Blute praktisch genommen nur in der Form von Tri-Zitrat vorkommen kann (Fig. 20). In einem Harn, dessen Wasserstoffionenkonzentration größer ist als die des entsprechenden Blutes,

[1] Bei einigen krankhaften Zuständen sind auch Veränderungen der Menge organischer Säuren im Harn beobachtet worden. Utheim (1921) fand eine Vermehrung derselben bei Kindern mit akuter Diarrhöe und eine sehr erhebliche Zunahme derselben bei Atrepsie („eine hochgradige, chronische Störung der Nahrungsaufnahme, von bekannten Infektionen unabhängig, und von akuten gastrointestinalen oder nervösen Symptomen unbegleitet"). Und Fanconi (1928) fand eine vermehrte Ausscheidung von organischen Säuren bei Coeliakie (Herters intestinaler Infantilismus). Derartige Patienten sind von mir nicht untersucht worden, auch nicht Kinder mit Azetonämie. Laut Goiffon (1928) kommt eine Erhöhung u. a. bei Pneumonie und Tuberkulose vor, eine leichte solche bei Basedow sowie bei einem Fall bei Hypothyreoidismus und ferner bei Melancholikern, Ängstlichen und Unruhigen. Bei meinen Untersuchungen ist der Zitronensäuregehalt bei Pneumonien in der Regel deutlich vermindert gewesen. Bei den übrigen hier genannten Störungen sind keine Veränderungen desselben aufgetreten. Magnus-Alsleben (1911) fand bei Fieber eine Vermehrung der organischen Säuren (bei Scarlatina) und Goiffon (1928) fand dasselbe, jedoch mit vielen Ausnahmen. Er beobachtete individuelle Schwankungen bei gleicher Infektion und gleichem Temperaturgrad. Daß das Fieber als solches einen Einfluß auf die Ausscheidung von Zitronensäure haben sollte, ist aus meinen Untersuchungen nicht hervorgegangen.

müssen dagegen je nach der Lage der cH größere oder kleinere Mengen Di- und Monozitrat vorhanden sein. In saurem Harn sollten überdies kleinere Mengen reiner Zitronensäure vorkommen können. Die Ausscheidung von Zitronensäure in einem Harn, dessen cH höher als das des Blutes ist, muß als eine Säureausscheidung und Alkaliersparnis betrachtet werden, da ein Teil des Alkalis hierbei retiniert wird. Dies gilt also auch für die normalen Verhältnisse. Bei einem Harn-cH $= 3 \times 10^{-6}$ dürfte etwa die Hälfte (die Angaben für den Wert von K_3 schwanken etwas) der Zitronensäure in Form von Dizitrat vorhanden sein, aber nur winzige Mengen Monozitrat existieren. Ein gefundener Wert von 0·5 g Zitronensäure ($+ 1 H_2O$) bei einem Harn-cH-Wert von 3×10^{-6} sollte, wenn K_3 zu 3×10^{-6} angenommen wird, einer Säureausscheidung von etwas über 12 ccm n/10-Säure (oder einer Alkaliersparnis von



Figur 20.

Bei Verwendung der ungefähren Mittelwerte der angeführten Werte der Dissoziationskonstanten würden sie in folgender Weise zu liegen kommen: Für Dizitrat etwas links der Harnsäure, für Monozitrat gleich links der β-Oxybuttersäure und für die Zitronensäure links der Hippursäure (nahe der Linie 1×10^{-3}).

ebensoviel n/10-Base) entsprechen. In Fasolds (1930 B) Untersuchungen an einem 10jährigen Knaben auf Fleischdiät betrug bei einem Harn-pH von 5·6 und 5·4 die Säureausscheidung der organischen Säuren 80 bzw. 56 ccm n/10-Säure. Bei höheren Werten des cH wird allerdings ein größerer Teil des Trizitrates in saures Zitrat überführt, die Untersuchungen haben aber gezeigt, daß bei den Zuständen, wo ein stark saurer Harn produziert wird, die Zitronensäureausscheidung stark abnimmt. Größere Bedeutung als alkaliersparender Faktor bei Säureüberschuß dürfte sie also nicht haben. Beim entgegengesetzten Verhältnis ist sie dagegen imstande eine gewisse Rolle zu spielen. Auch wenn der Harn einen niedrigeren Wert für das cH als das Blut hat,

kommt die Zitronensäure in beiden als Trizitrat vor. Eine direkte Alkaliausscheidung via Zitrat kann also nicht stattfinden. Dadurch aber, daß das Zitrat in der Form von Alkalisalz ausgeschieden wird, erfolgt ein Ersparen der „fixen" anorganischen Anionen, die sonst zur Bindung des im Überschuß vorhandenen Alkalis verbraucht worden wären. Eine unter derartigen Verhältnissen gefundene Ausscheidung von 2·20 g Zitronensäure (+ $1 H_2O$) würde eine Säureersparung von ungefähr 300 ccm n/10-Säure entsprechen. (Erwähnt soll indessen werden, daß eine derartige „Ersparung anorganischer Säuren" auch auf der sauren Seite erfolgt, da ja auch dort eine Ausscheidung von Alkalizitrat stattfindet). Die Zitratausscheidung spielt hierbei eine der Bikarbonatausscheidung analoge Rolle. Diese letztere ist indessen quantitativ überlegen. Bei Bikarbonatbelastungsversuchen (meistens 15 g $NaHCO_3$ per os) fanden Mainzer und Joffe (1928) in der Regel eine Bikarbonatausscheidung per Tag von ungefähr 200 Milliäquivalenten (2000 ccm n/10-Lösung entsprechend). Gestützt auf seine Untersuchungen über die Wasserstoffionenkonzentration und den Bikarbonatgehalt des Harns berechnet Mainzer (1929B), daß die maximale Bikarbonatkonzentration bei 536 Millimol per Liter liegen soll. Die Erfahrung zeigt jedoch, daß diese nicht erreicht werden kann. Davies, Haldane und Kennawy (1920) fanden dieselbe selten über $^1/_3$ n (333 Millimol per Liter), und spätere Untersuchungen sprechen für das Vorhandensein einer gemeinsamen Konzentrationsgrenze der Cl- und Bikarbonationen, die bei ungefähr 370 Millimol per Liter liegt (Davis, Haldane und Kennaway, 1920, Davis, Haldane und Peskett, 1921, Marshall, 1922, Mainzer, 1929B).

Bezüglich der Bedeutung der Zitronensäureausscheidung durch die Nieren für das Säure–Basen-Gleichgewicht des Körpers kann zusammenfassend gesagt werden, daß sie für die Säureausscheidung (Alkaliersparung) unter normalen Verhältnissen gering ist, um bei einem Säureüberschuß im Organismus noch geringer zu werden. Bei Alkaliüberschuß wirkt sie auf die „fixen" Anionen ersparend. In dieser Hinsicht ist sie allerdings gegenüber der Bikarbonatausscheidung von quantitativ untergeordneter Bedeutung, verdient aber Beachtung, namentlich im Gedanken an die Begrenzung, die bei der Bikarbonatausscheidung vorhanden ist.

Kap. V. Über die Herkunft der Zitronensäure des Harns.

In bezug auf die Ursachen der erhöhten Zitronensäureausscheidung beim Überschuß von alkalischen Stoffen im Körper (und der Abnahme derselben bei sauren) können folgende Gesichtspunkte angeführt werden.

Mac Leod und Hoover (1917) (Mac Leod und Knapp 1918—1919) sowie Grennwald (1922) haben gefunden, daß bei intravenöser Injektion von Natriumkarbonat oder -bikarbonat der Milchsäuregehalt des Blutes erhöht wird. Greenwald zieht außerdem aus seinen Untersuchungen den Schluß, daß der Gehalt an anderen organischen Säuren im Blute hierbei auch erhöht wird. Mac Leod und Knapp legen an ihre Beobachtungen teleologische Gesichtspunkte an. Wenn nur Kohlensäure für die Neutralisation des Alkaliüberschusses zur Verwendung gekommen wäre, würde der erhöhte $NaHCO_3$-Gehalt des Blutes eine Zunahme der Anzahl HCO_3-Ionen mit sich gebracht haben. Unter Hinweis auf Hooker, Wilson und Counett (1917), laut deren Untersuchungen die HCO_3-Ionen einen spezifischen Reizungseffekt auf das Atmungszentrum hätten, ziehen sie den Schluß, daß eine Hyperventilation mit Senkung der Kohlensäuretension der Alveolarluft die Folge davon sein sollte. Es sollte indessen hieraus eine Senkung der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes resultieren. In der Absicht einen derartigen ungünstigen Effekt zu verhindern, dürften also organische Säuren (die keine solche spezifischen Reizungseffekte haben), wie Milchsäure, an die Stelle der Kohlensäure treten. Fasold (1930 B), der auch diese Theorie aufstellt, widerlegt sie selbst, indem er hervorhebt, es ist bewiesen worden, daß die angenommene spezifische Reizungswirkung auf das Atmungszentrum durch die HCO_3-Ionen nicht existiert (Winterstein 1928, 1929).

Collazo und Morelli (1926) fanden nach subkutaner Injektion von verdünnten Lösungen von H_2SO_4 oder HCl regelmäßig eine Senkung des Milchsäuregehaltes des Blutes, sowie bei ähnlichen Injektionen von Alkali eine Erhöhung desselben. Gestützt auf diese Verhältnisse stellen sie die Theorie auf, daß die Milchsäurebildung ein wichtiger Faktor im Mechanismus für die Regulation des Säure-Basen-Gleichgewichtes sei. In Analogie mit der „Alkalireserve", und ihrer neutralitätsregulierenden Funktion bei drohendem Überschuß an sauren Substanzen, führen sie die Bezeichnung „Milchsäurereserve" ein. Die Milchsäure, deren Menge kompensatorisch bei Zufuhr von Alkalien erhöht (und bei Zufuhr von Säuren vermindert) wird, sollte zu einer Neutralisation des Alkaliüberschusses beitragen, und das Glykogen sollte das Reservoir darstellen, von dem die Milchsäure bei Bedarf abgegeben werden könnte. Goiffon (1928) ist der Ansicht, daß dies nicht nur als eine für die Milchsäure gültige Erscheinung aufzufassen ist. Er betont, daß bei Oxalämie und Oxalurie häufig eine Tendenz zu Alkalität des Harns vorhanden ist, wobei eine Zufuhr von Säure, so daß der Harn sauer wird, günstig auf die Oxalsäurediatese einwirkt. (Er weist dabei auf eine Arbeit von Schneider und Grigaut in Ann. de soc. d'Hydr. 27, 1926 p. 12 hin.)

Laut der Theorie von Goiffon ist die nachgewiesene Erhöhung des Gehaltes des Blutes an gewissen organischen Säuren, sowie die erhöhte Ausscheidung von organischen Säuren, eine Folge „einer allgemeinen Verbrennungsinsuffizienz bei Alkalose". Diese Theorie dürfte indessen noch ferner zu beweisen sein. Goiffon will in diesem Zusammenhang eine Parallelität zwischen der Ausscheidung der organischen Säuren und der „dysoxydativen Karbonurie" sehen. Dieser Begriff wird von Bickel und Kauffmann-Cosla (1926) als eine im Verhältnis zur N-Ausscheidung abnorm erhöhte C-Ausscheidung im Harn definiert, bei der eine Störung im intermediären Stoffwechsel und nicht in der Durchlässigkeit der Nieren das Ursachsmoment darstellt.

Durch Untersuchungen dieses Quotienten C/N, sowie der bekannten Harnbestandteile, die zur Bildung desselben beitragen, ist schon vor langem der Schlußsatz gezogen worden, daß es im Harn kohlenstoffhaltige Stoffe mit niedrigem oder ohne Stickstoffgehalt gibt, die noch nicht identifiziert worden sind (Fr. Kraus 1906). Die Zitronensäure ist ja eine kohlenstoffreiche, nicht stickstoffhaltige Verbindung, deren C-Gehalt unter normalen Verhältnissen in den Zeller des Quotienten C/N eingeht. Eine Erhöhung des Quotienten C/N über seinen normalen Wert wird als ein Zeichen einer Funktionsstörung allgemeiner Natur betrachtet. (Ein Spezialfall hiervon ist Diabetes mellitus.) Bickel und Kauffmann-Cosla weisen darauf hin, daß hierbei sicherlich C-Verbindungen von ganz verschiedener Art ausgeschieden werden. Trotzdem der Nachweis des Zitronensäuregehaltes des Harns eine erhöhte Kenntnis von der dysoxydativen Karbonurie schenkt, verbleiben in derselben noch unbekannte Faktoren. Sowohl in Goiffons Theorie der organischen Säuren, wie bei der Diskussion der dysoxydativen Karbonurie, stellt man sich vor, daß die Bildung dieser Stoffe (zu denen also auch die Zitronensäure gehören sollte) allgemein im Körper, im Anschluß an die Verbrennung, erfolgt, und die vermehrte Ausscheidung durch die Nieren sollte eine direkte Folge des erhöhten Gehaltes des Blutes an denselben Stoffen sein. In bezug auf einen anderen Stoff, dessen Ausscheidung mit Störungen im Säure–Basen-Gleichgewicht, obwohl in entgegengesetzter Richtung als die Zitronensäure, variiert, nämlich das Ammoniak, ist gezeigt worden (zuerst von Nash und Benedicht 1921), daß seine Bildungsstelle die Nieren sind. Wenn die Zitronensäureausscheidung eine Folge eines erhöhten Zitronensäuregehaltes des Blutes wäre, würde es natürlich wertvoller sein, die Ursache anstatt der Wirkung zu studieren; Blutuntersuchungen wären vor Harnuntersuchungen vorzuziehen. Der Zitronensäuregehalt des Blutes ist von Benni, Scherstén und Östberg (1930) zu 0·009 bis 0·048 Promille bestimmt worden. Bei den Untersuchungen der Fehler-

quellen der Thunbergschen Methode (Kap. II B 3) ergab sich deutlich, daß diese bei niedrigem Zitronensäuregehalt am größten waren. Einflüsse von anderen Bestandteilen in der zur Untersuchung vorliegenden Flüssigkeit konnten hierbei große Fehler verursachen.

Daß die übrigen Stoffe in einem Menschenserum einen beträchtlichen Einfluß auf das Analysenresultat ausüben können, geht aus einer vorgenommenen Untersuchung hervor, wo der Zitronensäuregehalt teils direkt nach Zusatz von Zitronensäure bestimmt worden ist:

Serum ohne Zusatz.

Zitronensäure Mikrogr.	—	0·75	1·5	2·25	3·0	3·75	4·5
Serum cmm	—	—	—	—	—	—	—
Entfärbungszeit Min. .	27	16	$10^1/_2$	5	5	$4^1/_2$	$4^1/_2$

Zitronensäure Mikrogr.	—	—	—	—	—	—
Serum cmm	50	100	150	200	250	300
Entfärbungszeit Min. .	$17^1/_2$	14	9	9	6	6

Serum mit Zusatz von Zitronensäure. A.: 10 ccm Serum + 0·2 mg Acid. citr.
B.: 10 ccm Serum + 0·4 mg Acid. citr.

Zitronensäure Mikrogr.	—	0·75	1·50	2·25	3·0	3·75	4·5	—	—	—
Serum A. cmm . . .	—	—	—	—	—	—	—	50	100	150
Serum B. cmm . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Entfärbungszeit Min. .	20	13	$9^1/_2$	5	5	4	4	12	9	$6^1/_2$

Zitronensäure Mikrogr. . . .	–	—	—	—	—	—	–
Serum A. cmm	200	250	—	—	—	—	—
Serum B. cmm	—	—	25	50	100	150	200
Entfärbungszeit Min. . . .	5	4	14	$10^1/_2$	$6^1/_2$	6	$4^1/_2$

Zitronensäuregehalt:

ohne Zusatz laut der Analyse 2·25/250 = 0·009 Promille
bei Serum A. „ „ „ 2·25/150 = 0·015 „ 0·029 berechnet
bei Serum B. „ „ „ 2·25/100 = 0·0225 „ 0·049 „

Bei dieser Untersuchung sind nur 0·2 ccm der Mb-Lösung in jeder Röhre verwendet worden.

Bei den Harnuntersuchungen kann man, wenn bei der Analyse niedrige Werte erhalten werden, sich damit begnügen, den Zitronensäuregehalt als abnorm niedrig zu registrieren, und braucht hierbei auf die Variationen keine Rücksicht zu nehmen. Auch bei Werten von über 0·20 g per Liter ist beim Ziehen der Schlußsätze nur auf große Variationen in den Analysenresultaten Rücksicht genommen worden.

Daß die Zitronensäure im Blutserum vorkommt, muß, wie schon von Benni, Schersten und Östberg (1930) hervorgehoben worden ist, durch das regelmäßig positive Resultat der Entfärbungsversuche als bewiesen erachtet werden. Doch wage ich den mit dieser Methode erhaltenen absoluten Zahlen oder der Schwankungen derselben keine

zu große Bedeutung beizumessen, bevor die Methode auf ihre Zuverlässigkeit bei Blutuntersuchungen genau geprüft worden ist.

Mit diesen Reservationen sollen jedoch hier die Ergebnisse einiger vorgenommenen Serumuntersuchungen mitgeteilt werden.

An einer Versuchsperson wurden während 9 Tagen täglich Bestimmungen des Zitronensäuregehaltes des Serums (nüchtern) ausgeführt. Die Nahrungszufuhr wurde qualitativ und quantitativ konstant gehalten. An den drei ersten Tagen war die Zitronensäureausscheidung 0·46, 0·55 und 0·61 g. Der Zitronensäuregehalt des Serums betrug 0·008, 0·010 und 0·010 Promille. An den drei folgenden Tagen wurde Acid. hydrochl. dil. (7 Proz.) per os zugeführt: 50 ccm, 60 ccm und 25 ccm, am sechsten Tage außerdem 10 g Ammoniumchlorid. Die Zitronensäureausscheidung sank auf 0·12 g. Die Serumwerte waren: 0·008, 0·010 und 0·010 Promille. An den drei letzten Tagen wurden täglich 25 g $NaHCO_3$ per os gegeben. Die Zitronensäureausscheidung stieg auf 1·25 g. Die Serumwerte betrugen 0·010, 0·011 und 0·010 Promille. Die Kohlensäurekapazität des Serums, nach Odin (1927) bestimmt, war am ersten Tage 48 Proz., am fünften 44 Proz. und am achten 49 Proz. Der Ammoniakgehalt und das pH des Harns zeigten die typischen Veränderungen, die man bei einer Zufuhr von größeren Mengen saurer bzw. alkalischer Stoffe zu erwarten hatte. Die Harnausscheidung wies keine größeren Variationen auf, war bei der Periode der Säurezufuhr am höchsten.

O. Ö. 7. V.

Datum	Diät	H_3N	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Serumzitronensäure Promille	CO_2 Proz.
7. V.	Normalkost	1·08	6·13	1100	0·46	0·008	48
8.	„	0·86	6·17	1100	0·55	0·010	
9.	„	0·99	6·47	1700	0·61	0·010	
11.	„ + 50 ccm 7 Proz. HCl	1·29	4·90	1650	0·66	0·008	43
12.	„ + 60 ccm 7 Proz. HCl	1·78	4·81	1900	0·24	0·010	
13.	„ + 25 ccm + 10 g H_4NCl	1·23	4·74	1050	0·12	0·010	
15.	„ + 25 g $NaHCO_3$	0·69	7·37	1100	0·46	0·010	
16.	„ + 25 g $NaHCO_3$	0·27	8·36	1200	0·80	0·011	49
17.	„ + 25 g $NaHCO_3$			1500	1·25	0·010	

Diese Untersuchung würde, bei Zuverlässigkeit der Serumwerte, dafür sprechen, daß die Schwankungen der Ausscheidung bei Zufuhr von Stoffen, die das Säure-Basen-Gleichgewicht stören können, nicht durch Veränderungen im Zitronensäuregehalt des Serums bedingt sind. Gegen die Untersuchung ist jedoch einzuwenden, teils, daß sie von zu kurzer Dauer ist, teils, daß sich die Veränderungen im Zitronensäuregehalt des Serums vielleicht leichter zu erkennen gegeben haben würden,

wenn die Blutproben in mehr direktem Anschluß an die Einnahme der Säure bzw. des Bikarbonats und nicht wie hier, nüchtern genommen worden wären.

Eine derartige Untersuchung habe ich an Kaninchen vorgenommen. In Urethannarkose wurden, nachdem zuerst eine Blutprobe zur Analyse entnommen worden war, 20 ccm 10prozent. Natriumbikarbonatlösung in die Vena jugularis injiziert. Nach einiger Zeit wurden neuerdings Blutproben entnommen. Die Analysen ergaben folgende Resultate (Mb 1:60000, 0·3 ccm in jeder Röhre, Flüssigkeitsvol. in jeder Röhre 1·2 ccm):

Kaninchen I.

Blutprobe vor der Bikarbonatinjektion: Serum A.
Blutprobe 5 Min. nach der Injektion: Serum B.

Zitronensäure Mikrogr.	0	4	5	6	7	—	—	—	—	—	—
Serum A. cmm	—	—	—	—	—	40	80	120	200	280	400
Serum B. cmm	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Entfärbungszeit Min.	42	12	10	6	6	8	$6^1/_2$	6	6	5	5

Zitronensäure Mikrogr.	—	—	—	—	—	—	5	6
Serum A. cmm	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum B. cmm	40	80	120	200	280	400	—	—
Entfärbungszeit Min.	$8^1/_2$	$5^1/_2$	5	$5^1/_2$	5	$4^1/_2$	$10^1/_2$	$6^1/_2$

Kaninchen II.

Blutprobe vor der Bikarbonatinjektion: Serum A.
Blutprobe 15 Min. nach der Injektion: Serum B.
Blutprobe 30 Min. nach der Injektion: Serum C.

Zitronensäure Mikrogr.	—	3	4	5	6	—	—	—	—	—
Serum A. cmm	—	—	—	—	—	40	80	120	200	400
Serum B. cmm	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum C. cmm	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Entfärbungszeit Min.	30	15	$6^1/_2$	$6^1/_2$	$6^1/_2$	9	9	$6^1/_2$	6	6

Zitronensäure Mikrogr.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum A. cmm	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum B. cmm	40	80	200	400	—	—	—	—	—
Serum C. cmm	—	—	—	—	40	80	120	200	400
Entfärbungszeit Min.	$8^1/_2$	$6^1/_2$	$6^1/_2$	6	8	$7^1/_2$	6	$6^1/_2$	6

Beim Ausrechnen werden folgende Werte erhalten: Kaninchen I vor und nach der Injektion gleich (auf die kleinen Differenzen von $^1/_2$ Min. kann kaum Rücksicht genommen werden): ($^6/_{80}$ —) 0·075 Promille (was ja im Vergleich zu dem beim Menschen erhaltenen ein hoher Wert ist). Kaninchen II vor der Injektion ($^4/_{120}$ —) 0·033 Promille. 15 Min. nach der Injektion ($^4/_{80}$ =) 0·050 Promille. 30 Min. nach der Injektion kaum ($^4/_{80}$ —) 0·050 Promille.

Diese Versuche deuten eine Zunahme des Zitronensäuregehaltes des Blutes eine gewisse Zeit nach der Zufuhr von Bikarbonat an. Die registrierten Variationen der Entfärbungszeiten sind jedoch zu gering, um

ganz bestimmte Schlüsse aus ihnen zuzulassen. Bei Kaninchen II zeigte der Harn, gelassen vor der Urethaninjektion, sowie der Harn, entnommen der Harnblase $^1/_2$ Stunde nach der Bikarbonatinjektion, vollkommen gleichen Effekt auf die Entfärbung im Mb-Versuch (die Minimientfärbungszeit wurde jedoch nicht erreicht). Bei einem anderen Kaninchen dagegen, das nicht in Narkose versetzt wurde, wurde der Zitronensäuregehalt im Harn, gelassen unmittelbar nach intravenöser Injektion von 30 ccm 5prozent. Natriumkarbonatlösung, zu 0·12 Promille bestimmt, während der vor der Injektion gelassene Harn nur 0·03 Promille enthielt. Es ist also möglich, daß die Narkose störend auf die Ausscheidung wirkt.

Die zweite Möglichkeit, daß Zitronensäure wie Ammoniak in den Nieren gebildet werden sollte, erscheint mit den Untersuchungsresultaten jedoch nicht unvereinbar.

Ein Versuch, mit der Zitronensäure als Objekt die Untersuchung, mit der Nash und Benedict (1921) die Ammoniakproduktion der Nieren zeigten, zu wiederholen, gab folgendes Resultat. Einem Kaninchen wurden intravenös 10 ccm einer 10prozent. $NaHCO_3$-Lösung dreimal im Verlauf von 24 Stunden eingespritzt (um die Zitronensäurebildung zu steigern zu versuchen und in dieser Weise deutlichere Ausschläge zu erhalten). Im Anschluß an die letzte Injektion wurde in Urethannarkose teils Nierenvenenblut (von der Vena cava nach Unterbindung derselben gleich unterhalb der Einmündung der Nierenvenen), teils Blut von der linken Herzkammer entnommen. Die Analyse gab folgendes Resultat.

(Mb 1 : 60000. 0·3 ccm in jeder Röhre. Flüssigkeitsvol. in jeder Röhre 1·2 ccm.)

Zitronensäure Mikrogr. . .	0	4	5	6	—	—	—
Arterielles Serum cmm . .	—	—	—	—	320	360	400
Nierenvenenserum cmm .	—	—	—	—	—	—	—
Entfärbungszeit Min. . . .	59	8	5	5	17	$15^1/_2$	$14^1/_2$

Zitronensäure Mikrogr.	—	—	—	—	—
Arterielles Serum cmm	—	—	—	—	—
Nierenvenenserum cmm	240	280	320	360	400
Entfärbungszeit Min.	$10^1/_2$	10	$9^1/_2$	10	$9^1/_2$

Da das Serum außerstande war, die Entfärbungszeit auf das für die Zitronensäure typische niedrige Niveau zu senken, können keine bestimmten Schlußsätze gezogen werden. Die Untersuchung würde jedoch für eine Zitronensäurebildung in den Nieren sprechen, da das Nierenblut die Entfärbung stärker beschleunigt hat. Die früher geäußerten Bedenklichkeiten bezüglich der Gültigkeit der Methode bleiben jedoch bestehen, und es ist ziemlich wahrscheinlich, daß das Blut nach dem Durchgang durch die Nieren einen niedrigeren Gehalt an solchen Stoffen hat, die einen hemmenden Einfluß auf die Entfärbung ausüben.

(Die mit Nierenvenenserum erhaltene Entfärbungszeit, die bei so schwankenden Serummengen wie 240 bis 400 cmm, praktisch genommen, unverändert auf einem Niveau nur etwas über der Minimientfärbungszeit

steht, deutet auf die Anwesenheit von Faktoren, die den Prozeß störend beeinflussen. Dasselbe ist bei der Untersuchung von Serum A, Kaninchen II angedeutet, wo eine Verdoppelung der Quantität von 40 auf 80 cmm die Entfärbungszeit auf einem Niveau $2^1/_2$ bis 3 Min. oberhalb der Minimizeit verbleiben läßt.)

Eine andere Erklärung der vermehrten Ausscheidung von organischen Säuren bei Alkalizufuhr wird von Goiffon (1925) erörtert. Die Stoffe werden von den Nieren um so leichter durchgelassen, je mehr ionisiert sie sind. Die organischen Säuren sind im freien Zustand sehr wenig, in der Form ihrer Salze dagegen vollständig ionisiert. Er hebt hervor, daß laut Ambards Untersuchungen der Schwellenwert für die Ausscheidung organischer Säuren sinkt, wenn sie in Form ihrer Salze vorkommen. Für die Zitronensäure gilt indessen, daß die Verschiebung des Verhältnisses zwischen freier Zitronensäure und Zitrat (oder zwischen saurem Zitrat und Trizitrat) bei Ansteigen des pH von 6 auf 8, in welches Gebiet die Mehrausscheidung gewöhnlich fällt, nicht sehr bedeutend ist. Zur Verminderung in stark saurem Harn kann allerdings die Schwierigkeit, freie Säure auszuscheiden, beitragen. Indessen sinkt der Zitronensäuregehalt hierbei oft bis gegen 0, obgleich bei diesen pH-Werten ein beträchtlicher Teil der Zitronensäure in der Form von Zitrat vorhanden sein dürfte. Diese Theorie, die aus ähnlichen Gründen von Goiffon für die „organischen Säuren" verworfen wird, kann demnach die Erscheinung in ihrer Gänze nicht erklären.

Eine bestimmte Theorie betreffs der Ursachen der schwankenden Zitronensäureausscheidung bei Variationen im Säure-Basen-Haushalt des Körpers wage ich noch nicht aufzustellen, auch keine bestimmte Auffassung bezüglich des Ursprungs der Zitronensäure zu äußern, sondern begnüge mich mit einem Hinweis auf das bei der Diskussion Vorgebrachte.

Der Zitronensäuregehalt der Milch, der während viel längerer Zeit ein Gegenstand der Studien gewesen ist, ist schon von Scheibe (1891) als etwas für die Milch spezifisches, demnach als von den Milchdrüsen produziert, aufgefaßt worden. Vaudin (1894) wollte den Ursprung der Zitronensäure in einer Spaltung von Milchzucker in den Milchdrüsen erblicken. Kieferle, Schwaibold und Hackmann (1925) äußern keine bestimmte Ansicht über den Ursprung der Milchzitronensäure, stellen aber fest, daß ein ziemlich konstantes Verhältnis zwischen Milchzucker- und Zitronensäuregehalt besteht, wenn sie in Milch verglichen werden, die von jedem Viertel der Milchdrüse für sich erhalten worden ist. Dieser Umstand ist wohl am ehesten als ein Zeichen dafür zu deuten, daß die Zitronensäure der Milch ein spezifisches Produkt der Tätigkeit der Milchdrüsen darstellt.

Kap. VI. Über die gegenseitige Beeinflussung von Kalzium und Zitronensäure im Organismus.

Nachdem das Vorkommen von Zitronensäure in der Milch entdeckt worden war, wurden die Gedanken schon von Beginn an auf ihre Bedeutung für die Kalziumsalze eingestellt. Ein Vergleich zwischen den Quantitäten Säuren und Basen in der Milchasche ergab einen deutlichen Überschuß der letztgenannten. Auch mit Rücksicht auf das basenbindende Vermögen des Kaseins blieb doch ein Rest von Kalzium übrig, für den früher eine entsprechende Säure fehlte. Es wurde vermutet, daß es sich um eine organische Säure mit löslichem neutralem Kalziumsalz handelte. Die Entdeckung der Zitronensäure als ein normaler Bestandteil füllte daher eine empfindliche Lücke in der Kenntnis von der Zusammensetzung der Milch (Kieferle, Schwaibold und Hackmann 1925 mit Hinweisen auf die Arbeiten von Soxhlet und Söldner). Laut von Söldner im Jahre 1888 gemachten Berechnungen sollten 0·25 Proz. Zitronensäure erforderlich sein, um die Salze der Milch in Lösung zu halten. (Dieser hohe Gehalt ist ja erst in letzter Zeit festgestellt worden.) Und Duclaux war 1893 der Ansicht, daß es „offenbar" Zitronensäure war, die im Verein mit Na das $Ca_3(PO_4)_2$ der Milch in Lösung hielt. Auch Vaudin (1894 und 1897) äußerte die bestimmte Auffassung, daß die Zitronensäure dazu beitrug, die Kalziumsalze der Milch, zusehens in der Form eines komplexen Natriumsalzes, in Lösung zu halten. Er machte außerdem Versuche mit wäßrigen Lösungen und fand, daß mit 1 g $Ca_3(PO_4)_2$ und 2·3 g Na_2HPO_4 in 1 Liter Wasser erst nach Zusatz von Zitronensäure eine vollkommen klare Lösung erhalten wurde. Doch war hierzu mehr erforderlich, als in der Milch angetroffen worden war. Bei Anwesenheit von Laktose wurde die Löslichkeit dieser angenommenen komplexen Natrium Kalzium Zitronensäure-Verbindung erheblich erhöht.

Daß die Zitronensäure ein besonderes Vermögen besitzt, Kalziumsalze in Lösung zu halten, ist seit langem bekannt. Im Jahre 1857 zeigte Spiller (siehe Sabbatani 1901), daß bei Anwesenheit von Zitrat Kalzium durch Karbonat, Phosphat oder Oxalat nicht gefällt wird, und daß, wenn derartige Niederschläge schon gebildet worden sind, diese durch Zusatz von Zitrat sogar wieder in Lösung gebracht werden können.

In der Industrie, namentlich betreffs Düngemittel, ist Zitronensäure oder Zitrat seit langem zur Auflösung von Kalziumphosphat verschiedener Konstitution verwendet worden. Aus Lunge-Berl (Chem. techn. Unters. Meth. 7. Aufl.) ist zu entnehmen, daß zweibasischer phosphorsaurer Kalk, $Ca_2H_2(PO_4)_2$, in Wasser unlöslich ist, aber leicht in zitronensaurem Ammoniak gelöst wird.

Sabbatani (1901) wiederholte die Versuche und fand, daß in Gemischen von Kalziumchlorid- und Natriumzitratlösungen kein Niederschlag von Ammoniumoxalat erhalten wurde, wenn das Verhältnis 1 Mol Ca pro 3 Mol. Zitrat war. Katz (1923) untersuchte den Effekt, den die Anwesenheit von Zitrat auf den Zusatz von Kalzium fällenden Stoffen zu Kalziumsalzlösungen hatte. Er kam hierbei zu dem Schlußsatz, daß die Konzentration von freien Kalziumionen unter Bildung von komplexen Verbindungen oder Ionen abnahm. Auch Strontium- und Bariumsalze wurden durch einen Zitratzusatz ihrer freien Ionen beraubt. Bei ihren Versuchen, Knorpel und Knochen in vitro zu kalzifiieren, fanden Shipley, Kramer und Howland (1926), daß der in normalem Blute sowie in Kalziumsalzlösungen vorgehende Prozeß, trotz genügendem Gehalt an Kalzium und Phosphor, durch Zusatz von Zitrat verhindert wurde.

Vom physiologischen Gesichtspunkt, mit Hinsicht auf den Ca-Gehalt des Blutes, ist die Löslichkeit von $Ca_3(PO_4)_2$ und $CaCO_3$ ein Gegenstand eingehender Untersuchungen von Hastings, Murray und Sendroy (1926—1927) gewesen. Die Anwesenheit von Na-Zitrat erhöht die Löslichkeit beträchtlich, wobei die Entstehung eines wenig ionisierten, komplexen Zitrates von Kalzium (nicht gewöhnliches Kalziumzitrat) als wahrscheinlich erachtet wird. Greenwald (1926) teilt mit, daß laut unveröffentlichten, in seinem Laboratorium ausgeführten Untersuchungen eine $CaCl_2$-Lösung, die 10 mg Ca auf 100 ccm enthält, selbst von 5 Äquivalenten Natriumoxalat in 24 Stunden nicht vollständig gefällt wird, wenn in derselben 2 Äquivalente Natriumzitrat anwesend sind. Und eine Lösung, die 10 mg Ca, 2 Äquivalente Natriumzitrat und 2 Äquivalente Natriumphosphat enthielt, blieb bei einem pH von 7·4 vollkommen klar. Aus Seidell (1919 und 1928) werden folgende Angaben über die Löslichkeit von Kalziumzitrat zitiert:

Kalziumzitrat in 100 g wäßriger Lösung. $Ca_3(C_6H_5O_7)_2 + 4H_2O$ (1903)
bei 18°: 0·08496; bei 25°: 0·0959.

Kalziumzitrat in Wasser per Liter (1924) bei 30°. $Ca_3(C_6H_5O_7)_2 - 4H_2O$ 2·2 g
$Ca_3(C_6H_5O_7)_2 + 6H_2O$ 2·01 g

Gleichgewicht im System Kalziumoxyd–Zitronensäure–Wasser bei 30°

Gramm per 100 g gesättigter Lösung:	$C_6H_8O_7 + 1\frac{1}{2}H_2O$	CaO
	0	0·113
	0·18	0·24

Shear und Kramer (1928) sowie Shear, Kramer und Resnikoff (1929) haben die Schwankungen im elektrischen Leitungsvermögen bei der Titration einer $CaCl_2$-Lösung mit Natriumzitrat untersucht. Die erhaltene Kurve hatte den Typus, den man zu bekommen pflegt, wenn Ionen infolge der Bildung einer löslichen, schwach ionisierten Verbindung oder Fällung aus der Lösung verschwinden. Da

kein Niederschlag beobachtet wurde, war man der Ansicht, daß die Untersuchung die Entstehung einer wenig ionisierten Kalziumzitratverbindung bewiesen hatte. Das minimale Leitungsvermögen wurde erhalten, wenn ungefähr äquivalente Mengen Kalzium und Zitrat anwesend waren, was darauf deutete, daß die genannte Verbindung ganz einfach $Ca_3(C_6H_5O_7)_2$ sein sollte. Wiley (1930) kritisierte die eben genannten Untersuchungen, da das pH in den Lösungen mit unsicheren Proportionen von Säure und Alkali eingestellt worden war, weshalb der einzige sichere Schlußsatz daraus war, daß Kalziumzitrat weniger ionisiert ist, als Kalziumchlorid oder Natriumzitrat in gleicher Verdünnung. Er brachte die Resultate eigener Untersuchungen über die Dissoziation des Kalziumzitrates vor. Der bei der Mischung konzentrierter Lösungen von Kalziumchlorid und Natriumzitrat erhaltene Niederschlag zeigte nach sorgfältigem Waschen einen Ca-Gehalt, der dem von $Ca_3(C_6H_5O_7)_2$ entsprach. Durch Untersuchung des elektrischen Leitungsvermögens in verdünnten Lösungen

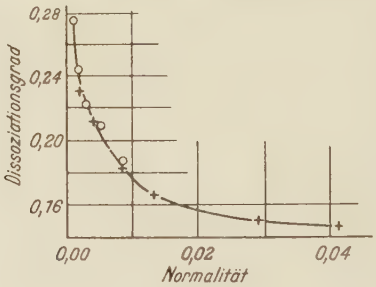


Fig. 21.

dieses Salzes bestimmte er den Dissoziationsgrad desselben. Die erhaltenen Werte waren allerdings niedrig, man kann aber von dieser Dissoziation bei größeren Verdünnungen nicht ganz absehen. Das Leitungsvermögen bei höheren Konzentrationen wurde durch Titration von Zitronensäurelösungen mit Kalziumhydroxydlösungen untersucht, die Normalität des Trikalziumzitrats für den Punkt des kleinsten Leitungsvermögens (bei weiterem Zusatz stieg es schnell) berechnet und der Dissoziationsgrad ermittelt. Die Ergebnisse sämtlicher Untersuchungen können der hier wiedergegebenen Kurve entnommen werden, die eine gute Übereinstimmung zwischen den auf verschiedene Weise gefundenen Werten zeigt (Kurve laut Wiley, Fig. 21).

Es scheint demnach festgestellt zu sein, daß, wenn Kalziumionen und Zitrationen zusammentreffen, eine starke Neigung zur Bildung einer löslichen, schwach ionisierten Verbindung besteht, die also die Kalziumionen an der Teilnahme an den Reaktionen hindert. Dieses Verhalten

muß für die Zitronensäure im Organismus und in gewissem Maße auch für den Kalk von Bedeutung sein.

Die Wirkung von Zitrat auf den Organismus in seiner Gänze, oder auf seine verschiedenen Funktionen ist Gegenstand vieler Untersuchungen gewesen, und so gut wie immer ist hierbei der Zusammenhang mit dem Kalk in den Vordergrund gestellt worden. Daß eine Veränderung des Kalkgleichgewichtes zustande kommt, wird allgemein anerkannt, in welchem Maße dies aber die Ursache der Symptome ist, darüber gibt es verschiedene Ansichten. So ist die Wirkung auf die Reizbarkeit der Skelettmuskeln und Nerven, auf die Hirnrinde und den Herzmuskel untersucht worden (Sabbatani 1905, Loeb 1901, Zoethout 1902, Maxwell 1906, Robertson und Burnett 1912, Gros 1913, Sakai 1914, Salant und Hecht 1915, Salant und Kleitman 1923, Clark, Percival und Stewart 1928, Brull 1930 u. a.).

Das Vermögen von Zitrat, beim Zusetzen in gewissem Verhältnis zu Blut das Eintreten der Koagulation zu verhindern, ist seit langem bekannt, die der Koagulation hervorrufende Effekt eines darauf folgenden Kaliumsalzzusatzes gleichfalls. Dieser Antagonismus führte ja leicht zu der Vorstellung, daß hierbei ein durch das Zitrat hervorgerufener Kalkmangel das wesentliche war, besonders da auf Grund früherer Untersuchungen (von Arthus und Pages 1891) die Notwendigkeit der Kalziumsalze für die Koagulation allgemein angenommen worden war. Diese Deutung der Zitratwirkung erhielt ihre Stütze hauptsächlich durch Untersuchungen von Sabbatani (1901, 1903). Spätere Untersuchungen haben dem Zitrat eine andere Rolle zugeschrieben und auch bei Abwesenheit von Kalziumsalzen ist Koagulation erhalten worden (Stuber und Sano 1922, Stuber und Lang 1930). Die Frage des Koagulationsmechanismus fällt indessen außerhalb den Rahmen dieser Arbeit.

Der direkte Effekt des Zitrats auf das Kalzium des Blutes hängt mit den verschiedenen Formen zusammen, in denen dieses vorkommt. Nur ein Teil desselben ist diffundierbar (also ultrafiltrierbar oder bei gewöhnlichen Dialyseversuchen austretend). Der nicht diffundierende Teil wird allgemein als eine organische, komplexe, nicht oder nur schwach ionisierte Verbindung aufgefaßt („der kolloidale Teil"). Auch der diffundierbare ist aber nicht vollständig ionisiert, sondern die Anwesenheit einer löslichen, diffundierbaren, kaum ionisierten Kalziumverbindung wird auch angenommen. (In bezug auf Literatur hierüber verweise ich auf Vines 1921 A und B, Cameron und Moorhouse 1925, Bernhard und Beaver 1926, Greenwald 1926, Klinke 1927 und 1928 A und B, Clark, Percival und Stewart 1928, Stewart und Percival 1928, Shear und Kramer 1928, Shelling und Maslow 1928, Brull 1930.) Die Ähnlichkeit zwischen dieser Verbindung und der schwach dissoziierten Kalziumzitratverbindung ist von mehreren Forschern besonders hervorgehoben worden (Bernhard und Beaver 1926, Greenwald 1926, der

jedoch die Identität verneint. Shear und Kramer 1928, Brull 1930. Hastings, Murray und Sendroy (1926—1927) haben auch gezeigt, daß Serum und eine Ca-haltige Zitratlösung sich in analoger Weise verhalten, indem kein Niederschlag entsteht, wenn $CaCO_3$ in festem Zustand zugesetzt wird, was dagegen der Fall ist, wenn anstatt dessen $Ca_3(PO_4)_2$ zugefügt wird.) Zwischen diesen verschiedenen Teilen herrschen komplizierte Gleichgewichtszustände, die beim Zusatz von Zitrat gestört werden. Übereinstimmende Untersuchungen von Stewart und Percival (1928), Shelling und Maslow (1928) und Brull (1930) haben gezeigt, daß hierbei die Ca-Ionenkonzentration vermindert und so gut wie die ganze Kalziummenge diffundierbar wird. Es kommt mit anderen Worten zu einer beträchtlichen Erhöhung des diffundierbaren, schwach ionisierten Teils, was sich bei Kenntnis der Gleichheit zwischen dieser und der Kalziumzitratverbindung, fast erwarten ließ.

Prinzipiell gleiche Reaktionen dürften bei einer Erhöhung des Zitronensäuregehaltes intravasal stattfinden. Die toxischen Symptome auf den Organismus in seiner Gänze bei Zitratzufuhr sind u. a. von Vietinghoff-Scheel (1902), Sabbatani (1905), Robertson und Burnett (1912), Salant und Wise (1916), Salant und Swansson (1918), Panisset und Verge (1922), Salant und Kleitman (1923), Normet (1924), Rosenthal und Baehr (1924), Pickering und Hewett (1925), Joannides (1926), Shelling und Maslow (1928) und Tsai und Hsu (1930) studiert worden. Die Ähnlichkeiten der Effekte auf die verschiedenen Organe und auf den Organismus in seiner Gänze von einerseits Zitrat und andererseits Salzen, die mit Kalzium unlösliche Verbindungen bilden, sind als Gründe der Theorie einer Dekalzifizierung als Ursache der Symptome angeführt worden. Gewisse Unterschiede in ihren Wirkungen sind von den Gegnern derselben angeführt worden. Daß die Kalziumsalze imstande sind, die Wirkung des Zitrats schnell aufzuheben, kann ja a priori, mit Kenntnis der zwischen ihnen bestehenden Affinität, als ein direktes Unschädlichmachen des Zitrats erklärt werden, ohne daß der Kalziumüberschuß hierbei selbst eine positive Wirkung auszuüben braucht. Daß andererseits die Störung im Kalkgleichgewicht, die das Zitrat verursacht, ganz ohne Bedeutung sein sollte, ist wohl kaum glaubwürdig. Die vorliegende Untersuchung beabsichtigt indessen nicht, einen Beitrag zur Lösung dieser Frage zu liefern.

Die durch die hier zitierten Untersuchungen gewonnenen Resultate über den Zusammenhang zwischen Kalk und Zitrat bei größeren Zitratmengen können indessen auch den eventuell vorhandenen physiologischen Zusammenhang zwischen ihnen beleuchten. Die Bedeutung desselben für die Kalkausscheidung durch die Nieren und die Löslichkeitsverhältnisse des Kalkes im Harn soll hier besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden.

A. Über die Relation zwischen der Ausscheidung der Nieren von Kalzium und Zitronensäure.

Daß die Zufuhr von größeren Zitratmengen die Kalziumausscheidung im Harn beeinflussen kann, scheint aus Untersuchungen von Brull (1930) und Proverman und Brull (1930) hervorzugehen. Brull fand bei intravenöser Natriumzitratinjektion an Hunden eine Zunahme der Kalziumausscheidung im Harn, was er als eine Folge der beobachteten Störung des Gleichgewichts zwischen der verschiedenen Kalziumformen im Blute deutete. Der nicht (oder schwach) ionisierte, lösliche und diffundierbare Teil, der bei Zitratzufuhr zunimmt, sollte für den Organismus ohne Wert sein und durch die Nieren ausgeschieden werden. (Er stellt die Theorie auf, daß der genannte Teil auch unter phyiologischen Verhältnissen als eine Art Schlackenprodukt zu betrachten ist, und daß nur dieses von den Nieren ausgeschieden wird.) Proverman und Brull untersuchten auch (an Hunden) die Wirkung von subkutaner und peroraler Zufuhr von Zitrat auf die Kalkausscheidung. Bei subkutaner Injektion fanden sie hierbei, daß 0·25 g und noch deutlicher ungefähr 0·75 g per kg Körpergewicht, bei Zufuhr an drei aufeinander folgenden Tagen, eine Zunahme der Kalkausscheidung durch die Nieren im Vergleich mit der vorhergehenden Periode ohne Zitratzufuhr verursachten. So wurden z. B. bei einer Untersuchung während der Vorperiode 11·2 mg (Mittelwert), bei der Zitratzufuhr 70·6 mg per Tag erhalten. Gleichzeitig wurde eine Abnahme des Kalziumgehaltes des Blutes um etwa 2 mg per 100 ccm konstatiert. Auch die Diurese wurde während der Zitratzufuhr erhöht, doch nicht in gleich hohem Grade wie die Kalziumausscheidung. Prinzipiell gleiche Resultate gaben Versuche mit peroraler Zufuhr von Zitrat; bei einer Dosis von 0·75 g per kg waren sie allerdings nur angedeutet, bei 1·5 g aber vollkommen deutlich. — Das Ca im Harn stieg von 36·7 mg auf 74·15 mg per Tag (Mittelwert) und das Serum-Ca sank von 11·2 auf 10·1 mg per 100 ccm. Eine Abnahme des Kalziumgehaltes des Blutes ist früher als ein vorübergehendes Phänomen nach Einspritzung von großen Zitratdosen von Clark (1921) registriert worden. Tsai und Hsu (1930) fanden dasselbe. Unter Hinweis auf die Untersuchungen von Thunberg und Mitarbeiter, die das Vorkommen der Zitronensäure in Körperflüssigkeit und im Harn nachgewiesen haben, stellen Brull und Proverman und Brull die Hypothese auf, daß die Zitronensäure normal eine Rolle für die Kalziumausscheidung durch die Nieren spielt. In ihren oben relatierten Versuchen liegt es ja nahe zur Hand, sich vorzustellen, daß die Kalkausscheidung in der Form einer Kalzium Zitrat-Verbindung stattfindet. Doch ist es natürlich nicht ausgeschlossen, daß eine andere

Störung des Stoffwechsels oder der Nierenfunktion im Anschluß an die hohen, fast toxischen Dosen zustande gekommen ist. (Ein Versuchstier wurde 3 Stunden nach subkutaner Injektion von 1 g per kg tot gefunden. Die perorale Zufuhr verursachte Diarrhöen. Auch Erbrechen kam vor.) Ich habe (schon bevor die Arbeiten von Proverman und Brull publiziert worden sind) der Frage nach dem eventuellen Zusammenhang zwischen Kalzium und Zitronensäure im Harn Aufmerksamkeit gewidmet, indem unter wechselnden Verhältnissen sowohl der Kalziumgehalt wie der Zitronensäuregehalt im Harn untersucht worden sind.

Die Kalziumbestimmungen sind, nach dem Einaschen des Harns, auf nassem Wege mit Salpetersäure und Schwefelsäure laut Neumann, mit einer Modifikation der Methode von Mc Crudden, in Übereinstimmung mit einem von Westerlund (1929) angegebenen Verfahren ausgeführt worden, wobei der Kalziumoxalatniederschlag gravimetrisch bestimmt worden ist. Das Einaschen vor dem Ausfällen mit Oxalat eliminiert die Fehlerquelle, die in der Anwesenheit von Zitronensäure besteht. Die letztere verhindert, wie erwähnt, die vollständige Ausfällung des Kalkes in der Form von Oxalat.

Bei der Kontrolle mit $CaCl_2$-Lösungen von bekannter Stärke, durch Auflösen von Marmor in Salzsäure gewonnen, wurden folgende Werte erhalten: 7·8 mg bei 8 mg, 11·9 mg bei 12 mg, 15·8 mg bei 16 mg. Bei den Harnanalysen wurden immer Doppelproben ausgeführt, die gute Übereinstimmung zeigten. Die größte zulässige Differenz wurde auf 0·3 mg festgesetzt (Proben von 25 bis 50 ccm wurden gewöhnlich zu den Analysen verwendet).

Am leichtesten werden Veränderungen im Zitronensäuregehalt des Harns durch Zufuhr von sauren oder alkalischen Stoffen hervorgebracht. Die hierbei entstehenden Verhältnisse sind indessen zu kompliziert, um eine Entscheidung zuzulassen. Außerdem sind Veränderungen in der Richtung, die die Theorie bekräftigen würde, nicht zu erwarten, da es eine bekannte Erscheinung ist, daß die Kalziumausscheidung der Nieren bei Zufuhr von sauren Stoffen und bei Acidosis im allgemeinen erhöht wird (Schetelig 1880, Gerhardt und Schlesinger 1899, Givens und Mendel 1917, Bernhardt 1924). Die ausgeführten Untersuchungen haben dies auch bestätigt. Die Phosphor-Bestimmungen (P) sind mit Embdens Methode laut Westerlund (1929) ausgeführt worden.

Wie schon erwähnt worden ist, verhielten sich verschiedene Versuchspersonen bei Zufuhr von Zitronensäure per os verschieden. Einige zeigten eine Zunahme des cH sowie des Ammoniakgehaltes des Harns, mit gleichzeitiger Abnahme der Zitronensäureausscheidung. Andere legten keine Zeichen einer Störung des Säure–Basen-Gleichgewichtes an den Tag und schieden größere Mengen Zitronensäure mit dem Harn aus.

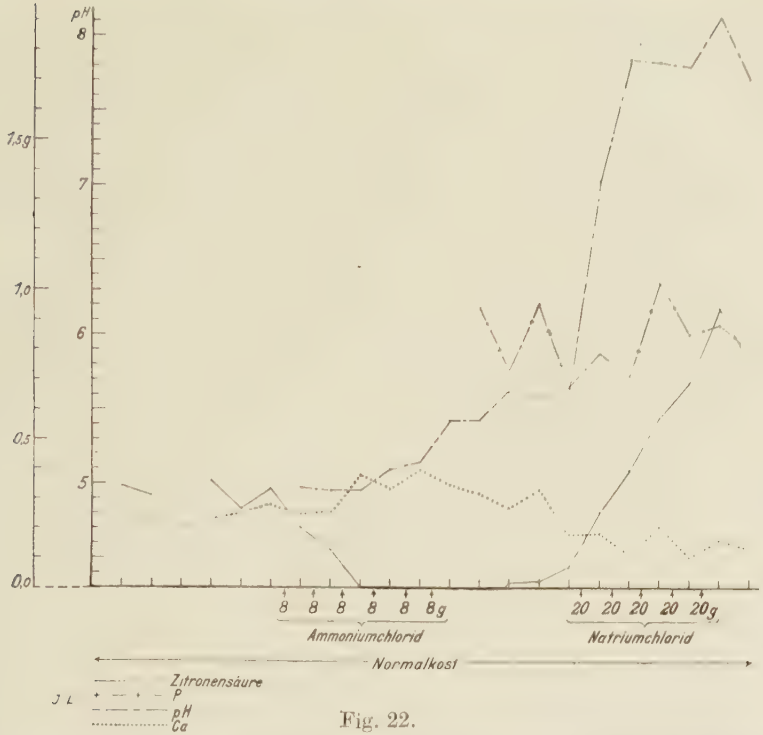


Fig. 22.

J. L. Siehe Fig. 22.

Datum	Diät	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure (g)	Ca g	P g	Anmerkungen
6. VII.	Normal-Kost	—	550	0·34	0·21	—	
7.	„	—	500	0·31	0·24		
8.	„	—	500	—	0·20	—	
9.	„	—	500	0·36	0·234		
10.	„	—	600	0·267	0·251		
11.	„	—	600	0·333	0·279		
12.	„ + 8 g H_4NCl	4·97	500	0·200	0·249		
13.	„ + 8 g H_4NCl	4·95	500	0·125	0·255		
14.	„ + 8 g H_4NCl	4·95	800	Spuren	0·375		
15.	„ + 8 g H_4NCl	5·09	600	Spuren	0·332		
16.	„ + 8 g H_4NCl	5·14	600	Spuren	0·395	—	CO_2
17.	„ + 8 g H_4NCl	5·42	600	Spuren	0·347	—	44 Proz.
18.	„	5·42	500	Spuren	0·315	0·938	
19.	„	5·61	500	0·015	0·265	0·733	
20.	„	5·59	600	0·018	0·328	0·952	
21.	„	5·64	400	0·067	0·176	0·678	
22.	„ + 20 g $NaHCO_3$	7·02	800	0·250	0·182	0·787	
23.	„ + 20 g $NaHCO_3$	7·84	1100	0·393	0·112	0·712	
24.	„ + 20 g $NaHCO_3$	7·82	1400	0·572	0·203	1·021	
25.	„ + 20 g $NaHCO_3$	7·79	1100	0·688	0·103	0·848	
26.	„ + 20 g $NaHCO_3$	8·12	1100	0·935	0·157	0·883	
27.	„	7·71	900	0·750	0·134	0·796	

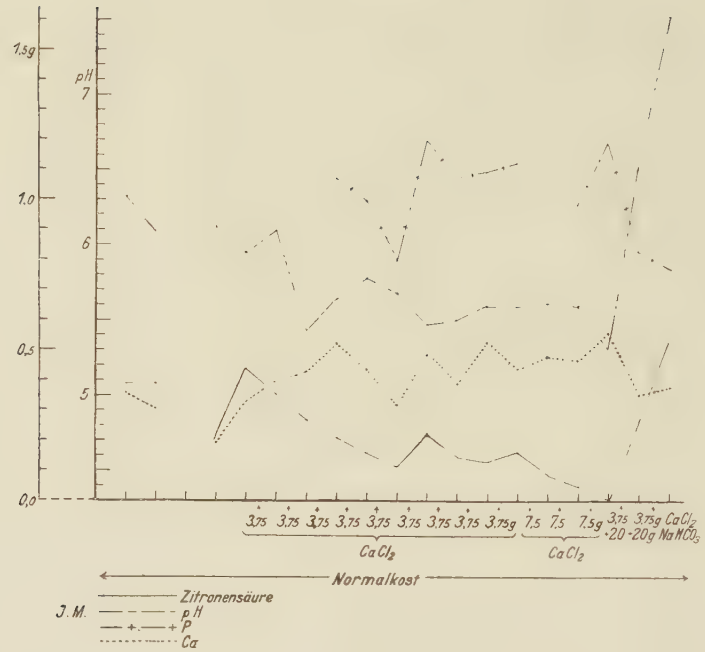


Fig. 23.

J. M. Siehe Fig. 23.

Datum	Diät	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Ca g	P g	Anmerkungen
11. VII.	Normalkost	6·32	1880	0·392	0·360	—	
12.	„	6·09	1250	0·391	0·307	—	
14.	„	6·12	880	0·220	0·195	—	
15.	„	5·95	1410	0·441	0·334	—	
16.	„ + 3·75 g $CaCl_2$	6·09	2150	0·358	0·395	—	
17.	„ + 3·75 g $CaCl_2$	5·43	1310	0·273	0·432	—	
18.	„ + 3·75 g $CaCl_2$	5·64	1800	0·212	0·525	1·074	
19.	„ + 3·75 g $CaCl_2$	5·78	1950	0·163	0·437	0·999	
20.	„ + 3·75 g $CaCl_2$	5·68	1730	0·115	0·322	0·799	
21.	„ + 3·75 g $CaCl_2$	5·47	2050	0·228	0·486	1·197	
22.	„ + 3·75 g $CaCl_2$	5·50	1450	0·145	0·392	1·072	
23.	„ + 3·75 g $CaCl_2$	5·59	1740	0·131	0·526	1·093	
24.	„ + 3·75 g $CaCl_2$	5·59	1780	0·160	0·443	1·123	
25.	„ + 7·5 g $CaCl_2$	5·61	2050	0·085	0·475	—	
26.	„ + 7·5 g $CaCl_2$	5·59	1920	0·049	0·465	0·983	
27.	„ + 7·5 g $CaCl_2$	5·31	1710	Spuren	0·556	1·185	
28.	„ + 3·75 g $CaCl_2$ + 20 g $NaHCl_3$	6·50	1480	0·269	0·354	0·826	
29.	„ + 3·75 g $CaCl_2$ + 20 g $NaHCl_3$	7·52	2385	0·530	0·376	0·770	

Eine Person, die auf Grund eines vorhergehenden Versuches als zur letzteren Gruppe gehörig betrachtet wurde, bekam Ammoniumzitrat per os während 4 Tagen in folgenden Dosen: 18 g, 24 g, 30 g und 30 g. Hierbei wurde eine deutliche Zunahme des Zitronensäuregehaltes des Harns von ungefähr 0·5 bis auf ungefähr 1·5 g beobachtet, während das cH und der Ammoniakgehalt im großen unverändert blieben. Irgendeine Zunahme des Ca-Gehaltes des Harns konnte hierbei jedoch nicht konstatiert werden. Nach einer Pause von 3 Tagen wurden Ca-Salze per os gegeben, anfangs nur Ca-Laktat, dann, nachdem das pH eine Tendenz zum Steigen gezeigt hatte, außerdem etwas $CaCl_2$. Es zeigte sich dabei eine Erhöhung des Ca-Gehaltes des Harns von ungefähr 0·25 g bis auf ungefähr 0·50 g. Eine Zunahme der Zitronensäure, die den Schluß gestattet haben würde, daß die Kalziumausscheidung in der Form einer Zitronensäureverbindung stattgefunden hatte, kam indessen nicht zustande. Leider sank, wahrscheinlich auf Grund einer Überdosierung von $CaCl_2$, das pH des Harns während des letzten Versuchstages ziemlich stark unter das frühere Niveau, was die Größe der Zitronensäureausscheidung beeinflußt haben kann.

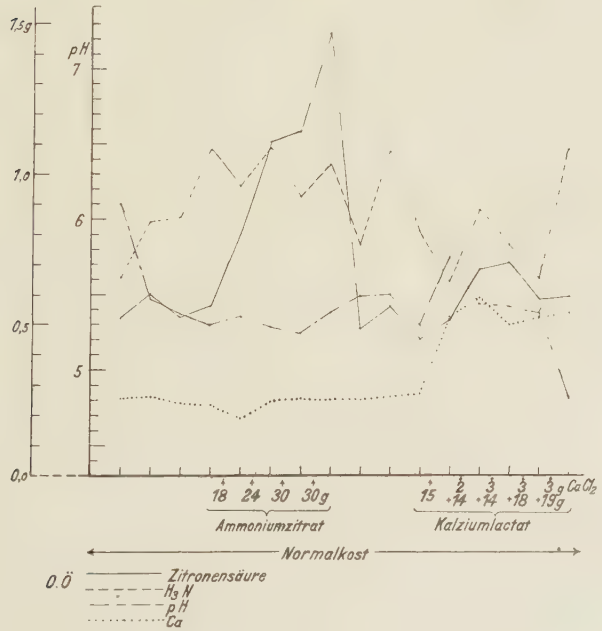


Fig. 24.

O. Ö. Siehe Fig. 24.

Datum	Diät	H_3N	pH	Harnmenge ccm	Zitronensäure g	Ca g	N g	Anmerkungen
12. XI.	Normalkost	0·655	6·10	1310	0·524	0·258	13·362	
13.		0·840	5·47	1200	0·600	0·260	13·200	
14.		0·855	5·37	950	0·528	0·243	13·300	
15.		1·080	5·30	900	0·563	0·237	14·130	Reichliches amorphes Sediment
16.	18 g Ammoniumzitrat	0·960	5·35	960	0·800	0·193	14·784	Sehr reichliches amorphes Sediment
17.	24 g Ammoniumzitrat	1·085	5·28	1550	1·107	0·247	16·585	Ziemlich reichliches Harnsäuresediment
18.	30 g Ammoniumzitrat	0·927	5·24	1030	1·144	0·255	15·656	Geringes Harnsäuresediment
19.	30 g Ammoniumzitrat	1·030	5·38	1030	1·471	0·250	9·785	Geringes Harnsäuresediment
20.		0·765	5·49	850	0·486	0·251	12·430	Mäßiges amorph. Sed. + einzelne Harnsäurekrist.
21.		1·078	5·50	980	0·560	0·264	12·446	Mäßiges amorph. Sed. + einzelne math. Kristalle
22.		0·810	5·30	900	0·450	0·270	11·700	Kein Sediment
23.	15 g Kalziumlaktat	0·648	5·75	1080	0·515	0·525	11·556	Kein Sediment
24.	14 g Kalziumlaktat 2 g Kalziumchlorid	0·880	5·44	1100	0·688	0·593	11·770	Kein Sediment
25.	14 g Kalziumlaktat 3 g Kalziumchlorid	0·765	5·42	850	0·708	0·501	11·135	Mäßiges amorphes Sediment
26.	18 g Kalziumlaktat 3 g Kalziumchlorid	0·658	5·38	940	0·588	0·527	12·596	Kein Sediment
27.	19 g Kalziumlaktat 3 g Kalziumchlorid	1·087	4·81	1430	0·596	0·543	12·584	Kein Sediment

Bei einem Vergleich zwischen den Ca- und Zitronensäure-Ausscheidungen verschiedener Personen (auch unter Berücksichtigung der Größe des pH) konnte keine bestimmte Korrelation gefunden werden. Außer den früher Angeführten sind 13 verschiedene Personen in dieser Weise untersucht worden.

Die Ca-Werte liegen allerdings in der Regel etwas unter den Zitronensäurewerten, die Differenz ist aber bald sehr groß, bald nur klein, und in einem Fall sind Ca-Werte beobachtet worden, die höher als der Zitronensäurewert gelegen sind. Eine Übereinstimmung zwischen der Größe dieser Differenz und dem pH gibt es nicht. Aus den Versuchen ist der Schlußsatz zu ziehen, daß, wenn auch ein gewisser Zusammenhang mit dem Zitronensäuregehalt wahrscheinlich erscheint, es außer diesem (und der Wasserstoffionenkonzentration) andere Faktoren geben muß, die den Ca-Gehalt des Harns beeinflussen.

Datum	Name	Diagnose	Zufuhr	Harnmenge ccm	pH	Zitronensäure g	Ca g	Die zur Kalziumbestimmung verwendete Menge ccm
9. VI.	E. K.	Tetania		950	—	0·06	0	20
13.				900	—	0·25	0	20
11.	D. M.	Nephritis acuta		300	—	0·17	0	20
16.				1400	—	0·05	0·11	—
18.				1200	—	0·12	0	50
11.	A.-L. E.	Nephritis acuta		300	—	0·17	0	20
16.				2600	—	0	0·052	—
18.				2000	—	0·33	0	50
12.	A. J.	Anaemia perniciosa		900	—	0·50	0·079	—
8. VII.	F. B.	Encephalitis lethargica		1600	—	0·40	0·15	—
9.				2250	—	0·87	0·23	—
10.				1850	—	0·41	0·19	—
11.			20 g $NaHCO_3$	1350	—	0·48	0·14	—
12.			20 g $NaHCO_3$	2000	7·90	0·60	0·16	—
13.				1670	7·26	0·52	0·16	—
2. XI.	O. H.	Spondylitis deformans		800	—	1·0	0·62	—
3.				600	5·52	0·50	0·49	—
4.				750	5·14	0·83	0·66	—
5.				1000	5·45	0·71	0·57	—
6.				1000	5·40	0·71	0·63	—
7.				800	5·30	0·89	0·64	—
8.				900	5·31	1·03	0·63	—
9.				600	5·31	0·69	0·45	—
10.			9 g Ammonzitrat	900	5·42	1·13	0·51	—
3.	M. I.	Ischias		1250	6·16	0·10	0·08	—
4.				1000	5·59	0·24	0·09	—
5.				1300	5·83	0·25	0·09	—
6.				900	5·78	0·23	0·04	—
7.				1100	5·95	0·31	0·06	—
14.	N. L.	Pneumonia cruposa		1600	5·12	0·07	0	—
17.	I. L.	Trombosis v. femoral		700	5·66	0·29	0·06	—
18.	G. S.	Trombosis v. femoral		800	5·28	0·15	0·34	—
19.	E. P.	Bronchopneumoniae		400	—	0·25	0·05	—
20.	F. H.	Diabetis mellitus + Albuminuria		1250	5·71	0·39	0·27	—
24.	E. L.	Ulcus ventriculi op. (Laparatomia 23. XI.)		290	5·23	0·41	0·03	—

B. Die Bedeutung der Zitronensäure für die Löslichkeit der Kalziumsalze im Harn.

Sicherer kann die Fähigkeit der Zitronensäure, das Lösungsvermögen des Harns für Kalziumsalze zu erhöhen, beurteilt werden. Daß es nicht dieses Letztere ist, das für die Kalziumausscheidung der Nieren bestimmend ist, ist schon früher bekannt (siehe z. B. v. Wendt 1905).

Meyer (1927) hat u. a. den Löslichkeitsverhältnissen der Kalziumsalze im Harn ein eingehendes Studium gewidmet. Er hat hierbei auf die totale Ionenkonzentration in normalem und konzentriertem Harn, sowie auf die Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration Rücksicht genommen. Gestützt hierauf führt er an, daß das Kalziumkarbonat sich innerhalb der Grenzen pH 5 bis pH 7 nicht in übersättigter Lösung befindet, aber wohl, wenn der Harn alkalisch wird. Die Kalziumphosphate sind dagegen innerhalb der genannten Grenzen fast beständig in bedeutend übersättigter Lösung vorhanden. In alkalischem Harn wird diese Übersättigung noch stärker.

Greta Hammarsten (1929) hat die Löslichkeit des Kalziumoxalats untersucht, dies namentlich mit Hinsicht auf die Entstehung einer Oxalurie. Gestützt auf ausführliche Berechnungen und experimentelle Untersuchungen ist sie der Ansicht, daß die große Löslichkeit des Kalziumoxalats im Harn fast erklärlich ist, so daß hierzu ein mystischer Einfluß von Schutzkolloiden kaum angenommen zu werden braucht. Eine dominierende Bedeutung für diese Löslichkeit hat der Magnesiumgehalt, was auf Bildung komplexer Verbindungen zwischen Magnesium und Oxalsäure beruht. Bei keiner von diesen Untersuchungen ist, offenbar weil der Zitronensäuregehalt des Harns in den Lehr- und Handbüchern so wenig beachtet worden ist, Rücksicht auf den Einfluß genommen worden, den die Bildung einer komplexen, wenig dissoziierten, löslichen Kalzium–Zitronensäure-Verbindung auf die Löslichkeitsverhältnisse hat. Daß diese auch bei den kleinen Mengen Zitronensäure, die im normalen Harn vorkommen, eine nicht unbedeutende Rolle spielen, läßt sich durch einige einfache Versuche leicht zeigen.

Man bereitet Lösungen von primärem sowie sekundärem Natriumphosphat, die ungefähr den normalen P-Gehalt des Harns haben (hier zu 1 g P per Liter berechnet). Durch Mischung dieser Lösungen in verschiedenen Verhältnissen werden Lösungen mit gleichem P-Gehalt, aber mit schwankendem cH erhalten. Jede dieser Mischungen wird in zwei gleich große Portionen geteilt; in der einen von diesen wird soviel Natriumzitat gelöst, daß die Konzentration der des normalen Harns entspricht, in der anderen eine äquivalente Menge Kochsalz, so daß die Veränderung der totalen Ionenkonzentration in der Zitronensäureröhre nicht zu einem größeren Lösungsvermögen beitragen kann. Durch eine Bestimmung wird kontrolliert, daß das pH in den beiden Portionen gleich ist. Darauf werden beide mit einer gleich großen Menge einer ziemlich konzentrierten $CaCl_2$-Lösung versetzt, die in beiden Röhren einen deutlichen Niederschlag verursacht. Schon mit dem bloßen Auge kann konstatiert werden, daß der Niederschlag in der Röhre, die Zitronensäure enthält, erheblich geringer ist, als der in der entsprechenden Röhre ohne Zitronensäure. Daß nach Ablauf eines Tages, wenn sich ein gewisser Grad von Stabilität ein-

gestellt hat, ein deutlicher Unterschied in der Löslichkeit vorhanden ist, wird durch folgendes erwiesen. Phosphatmischungen wurden in oben angegebener Weise dargestellt, wobei Lösungen mit A. pH 6·21, B. 6·79 und C. 7·15 erhalten wurden. Eine Portion von A. wurde mit Natriumzitrat, entsprechend einem Gehalt von 0·5 Promille Zitronensäure (A. 1), eine andere mit einer äquivalenten Menge Natriumchlorid (A. 2) versetzt. Zu B. wurde gleichfalls teils Natriumzitrat, entsprechend 1 Promille Zitronensäure (B. 1), teils NaCl (B. 2), sowie zu C. teils Natriumzitrat, entsprechend 1·3 Promille Zitronensäure (C. 1), teils NaCl in äquivalenter Menge (C 2) zugesetzt. Nach einem Tage wurde filtriert und das Ca-Gehalt im Filtrat bestimmt (nach Einaschen, McCruden-Westerlund). Es wurde folgende Mengen Ca in Milligramm per Liter erhalten: A. 1: 78, A. 2:27, B. 1: 46, B. 2: 9, C. 1: 27, C. 2: 4. (In den Röhren mit höherem pH ist mehr Zitrat mitgenommen worden, dies, um den Verhältnissen im Harn, wo der Zitronensäuregehalt mit steigendem pH erhöht zu werden pflegt, nachzuahmen.)

Bei der Untersuchung der Bedeutung für die Oxalat- oder Karbonatausfällung wurde der Versuch so modifiziert, daß von zwei Gefäßen, die gleich große Portionen einer und derselben Kalziumchloridlösung enthielten, das eine mit Natriumzitrat, entsprechend einem Zitronensäuregehalt von 0·5 g per Liter, das andere mit einer äquivalenten Menge Kochsalz versetzt wurde. Zu jedem Gefäß wurde dann eine gleich große Menge des Fällungsmittels zugefügt, jedoch nicht bis zur vollständigen Ausfällung des Kalkes. Nach einem Tage wurde filtriert, und der Kalkgehalt der Filtrate bestimmt. (Hier werden einige Zahlen mitgeteilt. Sowohl die Stärke der Kalziumchloridlösung, wie die Konzentration und Menge des Fällungsmittels waren beliebig gewählt. Nach teilweisem Ausfällen mit saurem Ammoniumoxalat enthielt das Filtrat mit Zitrat 2·60 Promille Ca, das Filtrat ohne Zitrat 2·29 Promille Ca. Nach einer ähnlichen Ausfällung mit K_2CO_3 zeigte das Filtrat mit Zitrat 1·50 Promille Ca, das Filtrat ohne Zitrat 1·38 Promille Ca. Diese letzten Untersuchungen sind mit einer Modifikation von Tisdals Methode ohne vorhergehende Einaschung ausgeführt worden. Hierbei wird allerdings mit einem Überschuß von Oxalat gefällt, trotzdem kann aber möglicherweise die Anwesenheit von Zitrat, das ja bei dieser Methode nicht entfernt wird, einen kleinen Bruchteil des Kalkes am Ausfällen verhindern, so daß die Differenz in der Tat noch deutlicher wird.)

Natürlich ist auf Grund dieser kleinen Versuche keine quantitative Berechnung über die Löslichkeit des Kalziums im Harn angestellt worden, denn hierbei spielen vielfache andere Faktoren mit hinein, von denen mehrere bekannt, aber sicherlich viele noch unbekannt sind. Möglicherweise können auch zwischen diesen und der Wirkung der Zitronensäure antagonistische Verhältnisse bestehen, welche die letztere vermindern. Zur Klarlegung dieser Frage sind indessen umfangreiche chemische Untersuchungen und Berechnungen in Analogie mit jenen, die von Hastings, Murray und Sendroy (1926—1927) in bezug auf die Verhältnisse im Serum ausgeführt worden sind, oder mit den genannten von Greta

Hammarsten (1929), über das Kalziumoxalat im Harn, erforderlich. Doch ist die hier festgestellte Wirkung so groß, daß zweifellos behauptet werden kann, daß der normale Zitronensäuregehalt des Harns eine große Rolle für das Inlösunghalten des Kalziums des Harns spielt. Dies ist soviel ich weiß, früher nie hervorgehoben worden. Es ist eine bekannte Erscheinung, was auch aus den oben angeführten Versuchen klar hervorgeht, daß das Lösungsvermögen für Kalziumphosphat stark von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig ist, indem das Lösungsvermögen mit steigendem pH sinkt. Laut der Zusammenstellung von Meyer (1927) ist z. B. der Sättigungsgrad (eine gesättigte Lösung hat den Sättigungsgrad 1, eine ungesättigte unter 1, eine übersättigte über 1) im „Normalharn" bei pH = 5 für sekundärer Kalziumphosphat $^1/_{1,5}$, für tertiäres Kalziumphosphat $^1/_2$ und für Kalziumkarbonat $^1/_{132}$, während bei pH = 8 die entsprechenden Zahlen 4, 22 und 8 sind. Sieht man dies im Zusammenhang mit der nachgewiesenen Erscheinung, daß die Zitronensäureausscheidung unter jenen Umständen, wo ein alkalischer Harn produziert wird, erhöht wird, muß man zur Auffassung gelangen, daß die Zitronensäure in wirksamer Weise zum Inlösunghalten des Kalziums des Harns beiträgt, da die größte Konzentration desselben gerade da gefunden wird, wenn das Lösungsvermögen des Harns im übrigen am kleinsten ist.

Eine andere Konsequenz ergibt sich auch bei Beachtung des Vermögens der Zitronensäure, Kalzium in Lösung halten zu können. Zur Bildung der Harnwegskonkrementen in alkalischem Harn leisten Kalziumsalze das hauptsächliche Material, was eine Folge der schlechten Löslichkeit der Ca-Salze in solchem Harn ist. Durch Erhöhung des Zitronensäuregehaltes in einem derartigen Harn, sollte das kalziumlösende Vermögen beträchtlich erhöht werden. Dasselbe kann durch Erhöhung der cH erreicht werden. Dies Letztere ist bei einer von Meyer ausgearbeiteten Methode mit permanenter Durchspülung der Harnblase mit HCl-Lösungen durch einen Doppelkatheter therapeutisch verwendet worden. In der Mehrzahl der Fälle erreichte er hiermit ein vollständiges Auflösen der Konkremente. Voraussetzung war natürlich eine richtige Diagnose, da Harnsäuresteine in einem derartigen Milieu im Gegenteil an Größe zunehmen. Die Indikation dieser Therapie ist also Steinbildung in alkalischem Harn, wo man hat konstatieren können, daß das Auftreten des alkalischen Harns im Verhältnis zur Steinbildung primär ist, und wo eine chirurgische Therapie als weniger geeignet zu betrachten ist. Die Fälle, wo dies in Frage kommen kann, sind hauptsächlich Rezidiven nach früher entfernten Phosphat Karbonat Uratsteinen oder Steinbildung nach Katheterisierung oder Harnwegsoperation, die zu einer Infektion mit ammonialkalischer Gärung im Harn Anlaß gegeben hat. Bei Verwendung einer solchen Therapie sollte der Effekt der Spülflüssigkeit als konkre-

mentauflösendes Agenz durch einen Zusatz von Zitronensäure beträchtlich erhöht werden können, und die Veränderung würde sicherlich keinen Nachteil für den Patienten mit sich bringen.

Nicht nur bei dieser speziellen Behandlungsmethode kann die Zitronensäure aber als Erhöhungsmittel des Lösungsvermögens des Harns für Ca-Salze gedacht werden. Bei Verabreichung per os von Zitronensäure ist entweder eine Erhöhung des Zitronensäuregehaltes des Harns, oder eine Zunahme seiner cH erreicht worden. Durch Zufuhr per os von Zitronensäure oder Ammoniumzitrat sollte vielleicht eine Ausfällung von Kalziumsalzen im Harn verhindert und vielleicht auch schon ausgefällte Salze in Lösung gebracht werden können.

Da im angeführten Versuch (O. Ö.) bei Ammoniumzitratzufuhr der Zitronensäuregehalt des Harns verdreifacht wurde, während andere hierbei untersuchte Faktoren im großen unverändert waren, wurde sicherlich das Lösungsvermögen für Kalzium des Harns beträchtlich erhöht.

Um sich über die Aussichten einer derartigen Therapie mit Bestimmtheit äußern zu können, ist indessen eine besondere Untersuchung der optimalen Dosierung, ihrer Wirkung auf den Organismus im übrigen während einer längeren Zeit, sowie des kalziumlösenden Vermögens eines unter solchen Verhältnissen produzierten Harns erforderlich, und schließlich bedarf es einer weiteren Kontrolle der Ca-Ausscheidung bei verschiedenen Dosen. Natürlich eignen sich nur die Fälle, wo nach peroraler Verabreichung von Zitronensäure eine Zunahme davon im Harn folgt, dazu.

Früher ausgeführte Versuche, mittels per os zugeführten Stoffen Konkremente in Lösung zu bringen, haben sich als resultatlos erwiesen (zit. Meyer, 1927), was indessen nicht verhindert, daß ein Stoff mit der spezifischen Wirkung der Zitronensäure in diesem Falle besser zu verwenden sein kann. Die Geschmacksunbehagen können aber bei einer derartigen Therapie Hindernisse in den Weg legen durch die erforderlichen relativ großen Dosen. Laut meiner persönlichen Erfahrung ist der stark saure Geschmack der Zitronensäure schwerer zu vertragen als der etwas ekelhafte des Ammoniumzitrats, weshalb das letztere geeigneter sein dürfte, trotzdem etwa 25 Proz. mehr von diesem zur Äquivalenz erforderlich sind. So müssen natürlich auch die eventuell hervorgerufenen toxischen Symptome berücksichtigt werden. An Tieren sind derartige hauptsächlich nach intravenösen Injektionen von Natriumzitrat studiert. In den Skelettmuskeln treten Zuckungen, die leicht die Form von schweren klonischen und tonischen Krämpfen, Opisthotonus, annehmen können, und schließlich Paresen auf. Die Herztätigkeit und die Respiration zeigen gleichfalls ein initiales Exzitationsstadium, mit gesteigerter Frequenz und Amplitude (sowie Erhöhung des Blutdruckes), von einem Depressionsstadium mit erniedrigtem Blutdruck gefolgt und zu Kollaps mit Herzlähmung und Aufhören der Atmung führend. Die Größe der toxischen Dosis ist in hohem Grade von der Geschwindigkeit der Zufuhr abhängig. Bei schneller Injektion einer konzentrierten Lösung sind toxische und mortale Dosen erheblich kleiner, als

wenn die Injektion langsam ausgeführt wird. Wird die Zufuhr sofort unterbrochen, wenn sich toxische Symptome einstellen, und bekommt das Tier eine Zeit hindurch Gelegenheit sich zu erholen, kann eine neue relativ große Dosis gegeben werden. Bei subkutaner Injektion zeigen sich die Symptome analog, nur sind zu ihrer Hervorrufung größere Dosen erforderlich. (In bezug auf die toxischen Wirkungen bei Injektionen an Tieren siehe v. Vietinghoff-Scheel 1902, Sabbatani 1905, Robertson und Burnett 1912, Salant und Wise 1916, Panisset und Verge 1922, Salant und Kleitman 1923, Normet 1924, Joannides und Cameron 1924, Pickering und Hewitt 1925, Joannides 1926, Goia und Petri 1927, Tsai und Hsu 1930 und Brull 1930.)

Bei Verabreichung per os kommt es häufig zu Diarrhöen; Bancroft (1907) fand das in einem Drittel der Fälle nach 100 bis 250 ccm einer etwa 4prozent. Lösung bei Kaninchen, Salant und Wise (1916) in gewissen Fällen nach 3 g per kg bei Kaninchen, Proverman und Brull (1930) nach 0·75 bzw. 1·5 g per kg bei Hunden. Auch toxische Symptome und Tod können auf eine Zitratzufuhr per os folgen, Salant und Wise (1916) bemerkten das nach 3 oder 5 g per kg bei Kaninchen, Shelling und Maslow (1928) nach Trinken von Milch mit 3 g Natriumzitrat per Liter bei Kaninchen. Von den meisten wird angegeben, daß eine deutliche kumulative Wirkung zu beobachten ist, auch bei einer ein- oder mehrtägigen Zwischenzeit zwischen den Dosen. (Robertson und Burnett 1912 fanden im Gegensatz hierzu eine erhöhte Toleranz bei täglichen Zitratinjektionen.)

In bezug auf die Toxizität der Zitronensäure für den Menschen macht v. Vietinghoff-Scheel (1902) einige Angaben aus der älteren Literatur: Klusemann (1852) sollte spontane Blutungen, Hömoptysen und Darmblutungen nach der Einnahme von Zitronensäure beobachtet haben. Kobert (1893) war der Ansicht, daß Zitronensäure keine tötliche Vergiftung verursache, daß aber Zitronensäurekuren Magen-Darmkatarrh, Blutungen im Darmkanal und in den Lungen mitsichbringe. Lewin (1897) erwähnt als Zitronensäurevergiftungssymptome Kopfschmerzen, Schwindel, Neuralgien und epileptische Krämpfe. In neuerer Zeit besitzt man meistens Erfahrungen über die tolerablen Dosen und die toxischen Symptome bei intravenöser (und intramuskularer) Injektion. Dies ist eine Folge davon, daß das Natriumzitrat an mehreren Orten als Hämostatikum verwendet wird. (Goia und Petri 1927 schreiben z. B. in bezug auf diesen seinen Effekt, daß „eine Mehrzahl Kliniker die Wirkung der Injektion von Natriumzitrat, verschiedene Arten von Blutungen zu hemmen, konstatiert haben". Sie sprechen von einem „vollkommenen Erfolg bei Hämatemesis, Meläna, Hämoptysis und Metrorrhagien" und versichern, daß „Natriumzitrat sich einen Platz ersten Ranges unter unseren Hämostatica erobert hat".) Neuhoff und Hirshfeld (1922) pflegten Erwachsenen 6 g langsam intravenös (200 Fälle) oder 9 g intramuskulär zu geben, ohne daß toxische Symptome erhalten wurden. Joannides und Cameron (1924) betrachteten 5 g als die höchste Dosis, die intravenös ohne Risiko gegeben werden konnte. Joannides (1926) beobachtete eine schnell vorübergehende

Bewußtlosigkeit an einem Patienten, der 66·7 kg wog, und der 450 ccm 3prozent. Natriumzitratlösung intravenös erhalten hatte. Goia und Petri (1927) verwendeten 3 bis 6 g in 30prozent. Lösung zu intravenöser Injektion und beobachteten hierbei zuweilen toxische Symptome, Blässe im Gesicht, Schmerzen in den Extremitäten, Angst und eigentümliche Trockenheit der Wangenschleimhäute.

In Analogie mit den Tierversuchen, von z. B. Salant und Wise (1916), die schwere toxische Symptome nach 0·1 g intravenös, aber gewöhnlich keine Nervensymptome nach 3 g per os registrierten, kann man berechnen, daß die toxische perorale Dosis für den Menschen ziemlich hoch ist. Wahrscheinlich kommt die Diarrhöe als Warnungszeichen lange vor den ernsteren Symptomen. In einem der hier angeführten Fälle traten ja Diarrhöen nach der Einnahme von 40 g Zitronensäure auf. In der angeführten Literatur ist immer Natriumzitrat verwendet worden. Man muß sich fragen, ob zwischen diesem und der freien Säure bzw. dem Ammoniumsalz ein Unterschied besteht. v. Vietinghoff-Scheel (1902) fand an Kaninchen für das Natriumsalz und die freie Säure analoge Wirkung; an Fröschen traten zwar die fibrillären Zuckungen in den Phalangen schneller und kräftiger nach dem Natriumzitrat als nach der Säure auf, die motorischen Störungen waren von etwas anderer Art, tonische Krämpfe, Tetanus und Trismus. Laut Normet (1924) sollte der vom Natriumzitrat ausgeübte Effekt vom Natrium und nicht vom Zitrat verursacht werden. Durch seine Neigung, an gewisse Kolloide fixiert zu werden, sollte das Zitrat immobilisiert werden und den Natriumionen die Freiheit zur Ausübung ihrer Wirkung geben. Diese Erklärung ist wohl nicht ganz sichergestellt, jedenfalls dürfte man mit einem größeren Unterschied im toxischen Effekt zwischen Zitronensäure und Zitrat, das via Ventrikel und Darm resorbiert wird, nicht zu rechnen brauchen.

Die Möglichkeit einer kumulativen Wirkung muß aber auch berücksichtigt werden. Auf Grund einiger klinischen Erfahrungen scheint diese Gefahr indessen nicht besonders groß zu sein. Steel (1921) gab in therapeutischer Absicht (bei Thromboangitis obliterans mit Gangrän) 250 ccm 2prozent. Natriumzitratlösung intravenös jeden zweiten Tag während eines Monats und später jeden dritten bis vierten Tag, im ganzen 85 Injektionen. Laut Morichaud-Beauchant (1922) wurden in einem Fall 4 g Natriumzitrat täglich 8 Monate hindurch ohne Symptome, die auf die Medizin zurückgeführt werden konnten, gegeben. Schließlich soll auch auf die großen Erfahrungen von der chronischen Zitronensäurezufuhr bei Achylia gastrica hingewiesen werden, wobei keine toxischen Symptome beobachtet worden sind.

Die Konsequenzen, die hier aus meinen Versuchen gezogen worden sind, dürfen natürlich nur als Anregungen betrachtet werden. Sie verlangen weitere Untersuchungen, hauptsächlich in bezug auf die Effektivität, aber prinzipielle Gründe gegen die Durchführung einer derartigen Prüfung in therapeutischer Absicht scheinen nicht vorhanden zu sein.

Kap. VII. Die Zitronensäureausscheidung bei Krankheiten.

Im Kapitel über die normale Zitronensäureausscheidung wurde eine Anzahl Krankheiten, bei denen keine Störungen in derselben registriert worden sind, aufgerechnet.

Die Krankheiten, bei denen oft ein verminderter Zitronensäuregehalt des Harns vorkommt, sind Nierenkrankheiten, Pneumonien, gewisse Blutkrankheiten, einige septische Krankheiten sowie Coma (oder Praecoma) diabeticum.

Erklärungen zur Tabelle über die Nierenkrankheiten.

Wo nichts anderes angeführt wird, beziehen sich die Angaben für Albumingehalt und Sediment auf jene Tage, an denen die Zitronensäurebestimmungen ausgeführt sind.

Die Buchstaben in der Kolonne „Diät" beziehen sich auf das auf der Klinik gebräuchliche Nephritis-Kostschema, wobei folgende Bezeichnungen verwendet worden sind: A Mischung von Sahne und Wasser, B Kartoffel, Reis und Butter, C Brot, Grütze und Milchsuppe, D Frucht- und Saftspeisen, E Gemüse, F. Eier, G Fisch. Alle diese Nahrungsmittel sind ohne Salz zubereitet. Jede mit einem Buchstaben bezeichnete Kostform schließt auch alle vorher genannten ein. „DP" bezeichnet Diätportion, d. h. gewöhnliche leichte Kost. In der Kolonne Bemerkungen wird mit CO_2 die Kohlensäurekapazität des Blutes, nach Odin (1927) bestimmt, verstanden.

Von akuten (oder subakuten) Nephriten sind 22 Fälle untersucht worden, von denen 18 eine abnorm niedrige Zitronenausscheidung hatten; dies wenigstens bei einer Gelegenheit. Zwei von ihnen (1, 2), die ernste Symptome zeigten und später starben, der eine im Bilde von Urämie, hatten keine oder so gut wie keine Zitronensäure im Harn. In den übrigen Fällen wurde meisten eine Rückkehr der Zitronensäureausscheidung auf normale Werte, oft im Zusammenhang mit einer klinischen Verbesserung, wahrgenommen. In einem Fall (17), der bei der Entlassung aus dem Krankenhaus als nicht gebessert bezeichnet wurde, war der Zitronensäuregehalt zu diesem Zeitpunkte fortwährend abnorm niedrig.

Unter den untersuchten 35 Fällen von chronischer oder subchronischer Nephritis gab es 13, die keine zu niedrigen Werte hatten (45 bis 57). Acht Fälle zeigten bloß einzelne zu niedrige Werte (37 bis 44), und in drei Fällen (27, 33, 35), an denen nur eine Untersuchung ausgeführt wurde, waren sie nur unbedeutend erniedrigt.

In den drei Fällen von Urämie (23, 32, 34) gab es im Harn keine Zitronensäure. Ein Fall (24) zeigte bei den drei vorgenommenen Untersuchungen gleichmäßig sinkende Werte, alle unter dem Normalen, ohne

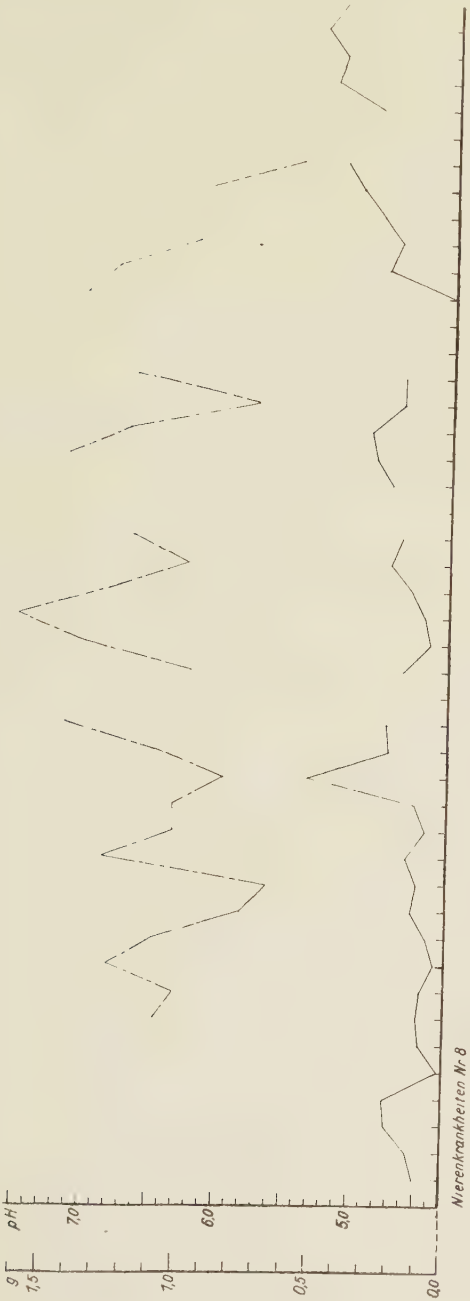

g
1,5
1,0
0,5
0,0
pH
7,0
6,0
5,0
Nierenkrankheiten Nr. 8
K.O ——— Zitronensäure
— — — — pH

Fig. 25.

Nierenkranl

Nr.	Name	Geschlecht	Alter	Diagnose	Albumin	Sedimente			Blutdruck	Rest-N
					Promille	rote	weiße	zyl.		
1. 228	A. N.	m.	34	Glomerulonephritis acuta diffusa c. uraemia. (Pathol. anatom. gesichert)	8	zahlreich	zahlreich	einzelne hyal. u. körnige	155	120
2. 1462	M. S.	m.	21	Septicaemia (Pathol. anat. septische Herdnephritis)	Spuren	spärlich	spärlich	spärlich	110	60
3. 368	I. L.	w.	16	Nephritis subacuta	Spuren	spärlich	spärlich	0	140	60
4. 148	G. N.	m.	18	Septicaemia + Nephritis	2	reichlich	mäßig	einzeln	110	50
5. 505	A. J.	w.	14	Nephritis acuta recidivans	8. III. 0·2 19. III. 0	8. III. 0 19. III. einzeln	zahlr. mäßig	spärlich einzelne Fragmente	12. III. 110	12. III.
6. 708	S. H.	m.	13	Glomerulonephritis acuta	28. III. 0·7 29. III. 0·2 4. IV. 0·5	28. III. reichlich 3. IV. reichlich	reichlich mäßig	0 0	125	40
7. 1525	E. P.	m.	15	Nephritis acuta	wechselnd 0·2—2·2	26. VIII. einzeln 2. IX. 0	einzeln 0	0 0	26. VIII. 110 2. IX. 125	27
8. 360/B	K. O.	m.	3	Nephritis acuta	Spuren—0	spärlich	spärlich	einzeln	95	
9. 380/B	S. K.	m.	6	Nephritis ac. haemorrh.	0·7—0·3	reichlich	spärlich	spärlich	10. IX. 140 25. IX. 115	
10. 1072/30	J. C.	m.	21	Nephritis acuta	1·8	reichlich	reichlich	mäßig körnig	205	92
11. 1196/30	F. A.	m.	14	Nephritis subacuta	12. VI. 0·2 Spuren 19. Spuren 20. 0	massenhaft	reichlich	0	125 17. VI. 115	12. VI. 16. VI. 18. VI.
12. 1186/30	A.-L. E.	w.	21	Nephritis acuta (nach Angina)	11. VI. 1·5 16. Spuren	massenhaft einzeln	reichlich einzeln	spärlich körnig einzeln	145 14. VI. 120	35
					19. 0	0	einzeln	0	115	
13. 1188/30	D. M.	w.	19	Nephritis acuta (nach Angina)	11. VI. 3 12. 2 13. 2	reichlich	reichlich	reichlich körnig	135 14. VI. 140 16. VI. 120	50
					17. 0·3 18. Spuren 19. „ 20. „	einzeln einzeln	einzeln einzeln	einzeln einzeln	19. VI. 125	

t e n.

n	Datum	Wasserprobe: Ausscheidung	Wasserprobe: Verdünnung	Wasserprobe: Konzentration	Entlassungszustand	Bemerkungen	Zitronensäure		Diät
					† 11. II.	Hb. 65. R. Blutkörp. 3·85	31. I.	—	A
					† 13. VIII.		10. bis 12. VIII.	Spuren	A
					verbessert		5. II.	0·21	A
t					27. II.		7. II.	0·11	
	22. III.	schlecht	1005	1012	verbessert 31. V.		11. II.	0·18	E
	15. III.	nicht ganz gut	15. III. 1001	1018	verbessert 22. III.		8. III.	Spuren	F
							19. III.	0·50	G
					gesund 6. V.		28. III.	0·12	A
							29. III.	0·27	
							4. IV.	0·24	B
	26. IX.	nicht gut	1001	1026	10. X. nicht symptomfrei		25. VIII.	—	
							29. VIII.—4. IX.	0·33—0·56	
					symptomfrei 3. XI.	Akute Nephritis am 3. IX. einsetzend	Siehe Kurve Fig. 25		Sahne, Obst und Saft 14. X. Salzarme Kost
					verbessert 7. X.	Akute Nephritis Mitte August einsetzend	11. IX.—24. IX.	0·09—0·18	Sahne, Obst und Saft
							25. IX.—6. X.	0·04—0·07	
ig					gesund 8. VII.		21. V.	Spuren	A
en							23.	0·10	
er-									
n-									
n									
					verbessert 28. VIII.		12. VI.	0·11	A
							18.	0·03	B
							19.	0·05	
							20.	0·07	C
					verbessert 22. VI.		11. VI.	0·17	A
							12.	0·20	
							13.	0·20	
							15.	0·04	B
							16.	—	
							17.	0·27	
							18.	0·33	
							19.	Spuren	C
							20.	0·54	
					verbessert 21. VI.		11. VI.	0·17	A
							12.	0·14	
							13.	0·24	
							15.	Spuren	B
							16.	0·05	
							17.	0·07	
							18.	0·12	
							19.	0·25	
							20.	0·47	

Nierenkrankheite

Nr.	Name	Geschlecht	Alter	Diagnose	Albumin Promille	Sedimente rote	Sedimente weiße	Sedimente zyl.	Blutdruck	Rest-N
14. 1091/30	J. J.	w.	25	Nephritis subacuta	30. V. 0·1	0	einzeln	0	105	22. V. 3. VI.
15. 334/B	K. P.	w.	5	Nephritis ac. haemorrh.	0·2—0·5	einzeln	einzeln	0	115	
16. 486/B	T. P.	m.	4	Nephritis ac. haemorrh.	0·1	reichlich	reichlich	Fragmente	100	
17. 1088	A. H.	w.	47	Nephritis subacuta + Vitium org. cord + Anaemia	0	0	spärlich	0	30. V. 180	31. V.
18. 1390	A. N.	m.	22	Nephritis acuta	0·6	massenhaft	massenhaft	0	140	60
19. 497	E. H.	w.	17	Nephritis subacuta recidivans	0 bei Bettlage, Spuren bei Bewegung	einzeln	einzeln	Fragmente körnig	150 120	38
20. 883	F.A.	m.	13	Nephritis acuta	24. IV. 1 2. VI. 0·1	reichlich reichlich	reichl. spärlich	0 0	120 100	31 38
21. 1695	S.-A.N.	m.	18	Nephritis acuta	0·9	einzeln	einzeln	0	135	46
22. 1868	A. I.	m.	53	Nephritis acuta	0·2—Sp.	einzeln	mäßig	einzeln	150	40
23. 553	J. D.	m.	32	Nephr. chron. c. uraemia (Pathol. anat.: Restniere nach Glomerulonephritis diffusa)	1	mäßig	0	0	170	500
24. 221	M. K.	w.	33	Nephritis chronica	8. II. 2 18. II. 3	zahlreich mäßig	zahlreich zahlreich	einzelne körnige einzelne körnige	4. II. 125 22. II. 135	29. I. 11. II. 18. II.
25. 213	I. S.	w.	24	Nephritis chronica + Graviditas	31. I. 0·6 5. III. 0·4	reichlich reichlich	mäßig mäßig	einzelne körnige einzelne körnige	135 135	30 26
26. 1307	V. L.	w.	23	Nephritis chronica (Septicaemia ?). Purpura haemorrhagica. Anaemia secundaria	7.—24. VIII. 1·4—0·3 25. VIII. bis 25. IX. 0·3 bis Spuren	reichlich zahlreich	reichlich einzelne	spärlich einzelne	135 120	46

Fortsetzung).

em	Datum	Wasserprobe: Ausscheidung	Wasserprobe: Verdünnung	Wasserprobe: Konzentration	Entlassungszustand	Bemerkungen	Zitronensäure		Diät
0	23. V.	gut	1000	1006	verbessert 2. VII.		30. V. 3. VI. 4. VI.	— Spuren > 0·20	D E
0						Akute Nephritis. Mitte August einsetzend	10. IX. 11. IX. 12. IX. 13. IX. 15. IX. 16. IX. 17. IX. 18. IX.	0·05 0·18 0·12 0·25 0·21 0·13 0·41 0·21	Sahne, Obst und Saft. 13. IX. Butter, Brot. 16. IX. Fisch, Fleisch.
0							9. XII. 10. XII. 11. XII. 12. XII.	0·14 0·18 0·14 0·18	
)					verbessert 13. VI.	Hb. 26. R. Blutkörp. 1·29 Mill.	27. V. 2. VI. 3. VI.	0·04 0·21 0·31	E
)					unverbessert 1. VIII.		26. VII. 29. VII. 30. VII.	0·14 0·06 0·05	A B
cht der f- me	28. II.	nicht vollständig	sp. Gew. 1000. Darin Spuren von Zitronensäure	sp. Gew. 1026. Darin Zitronensäure 1·07 Promille	verbessert 15. III.		14. III.	0·39	28. II. G 14. III. G
					gesund 2. VIII.		24. IV. 2. VI.	0·32 0·25	B D
	7. X.	schlecht	1003	1013	symptomfrei 26. X.		19. IX.	0·23	B
	22. X.	nicht ganz gut	1001	1019	verbessert 1. XI.		17. X. 18. X. Danach Probe täglich bis 24. X.	0·32 0·16 > 0·20	A 19. X. B 21. X. C 24. X. D
					† 15. III.	Hb. 50. R. Blutkörp. 2·37. CO_2 36%	4. III. 5. III.	— —	A
der f- me I., 6. I. g					verbessert 27. II.	Hb. 40 R. Blutkörp. 3·3 Mill.	3. II. 7. II. 18. II.	0·175 0·08 0·03	B C F
	3. II.	schlecht	1003	1011	unverbessert 7. III.		31. I. 5. III. 6. III.	— — —	E E
	24. IX.	schlecht	1001	1012	verbessert 25. IX.	4. IX. CO_2 49·5%	46 Untersuchungen 7. VIII.—25. IX. Spuren, mit einzelnen Werten bis auf 0·07		A—G

Nierenkrankheiten

Nr.	Name	Geschlecht	Alter	Diagnose	Albumin Promille	Sedimente rote	Sedimente weiße	Sedimente zyl.	Blutdruck	Rest-N
27. 1197	N. J. L.	m.	56	Nephritis chronica	17. VI. 0·1	zahlreich	zahlreich	Fragmente	150	13. VI. 8 20. VI. 5
28. 1346	N. S.	m.	30	Nephritis chronica	1	0	0	0	115	13. VII. 22. VII.
29. 1250	H. J.	w.	27	Nephritis (nephrosis) chron.	12—2	0	0	0	100	25. VII. 6 9. VII. 1 15. VII. 13. VIII. 6 20. VIII. 4
30. 1196/30	W. R.	w.	18	Nephritis chron.	8. V. 2·1	mäßig	mäßig	mäßig	130	14. V. 150
31. 1012/30	O. L.	m.	66	Nephritis chron.	21. V. 1·5 22. 1·2	einzeln	mäßig	reichlich körnig	210	85
32. 1744	O. K.	m.	67	Nephritis chron. Uraemia	4 und 7	massenhaft	spärlich	0	180	300
33. 1503	B. A.	m.	22	Nephritis chron.	0·5	0	einzeln	Fragmente reichlich	105	38
34. 1995	T. D.	m.	19	Nephritis (nephrosis ?) chron. c. uraemia	1—2	einzeln	mäßig	0	125	200
35. 260	A. L.	w.	68	Nephritis chron.	6	einzeln	mäßig	0	210	18. I. 60 6. II. 75
36. 1113	M. P.	w.	32	Nephritis chron.	0·4—0·8	0	0	0	100	33
37. 1196	G. Å.	m.	16	Nephritis chron.	Spuren — 0	einzeln	einzeln	einzeln	150	40
38.	A.-G. C.	w.	19	Nephritis chron.	21. V. 10 22. 5 23. 5	einzeln	mäßig	0	125	34
39. 925	H. L.	w.	23	Nephritis chron.	11. VI. 0·4 25. VII. 0	einzeln 0	einzeln 0	0 0	115	33

(Fortsetzung).

Ödem	Datum	Wasserprobe: Ausscheidung	Wasserprobe: Verdünnung	Wasserprobe: Konzentration	Entlassungszustand	Bemerkungen	Zitronensäure		Diät
0					verbessert 5. IX.		17. VI.	0·14	A
0					unverbessert 24. VII.		19. VII.	Spuren	B
							22. VII.	Spuren	
							23. VII.	Spuren	C
					verbessert 31. VIII.	CO_2: 13. VII. 23% CO_2: 15. VII. 27% CO_2: 16. VII. 24% CO_2: 17. VII. 25% CO_2: 19. VII. 30% CO_2: 22. VII. 37% CO_2: 25. VII. 39% CO_2: 30. VII. 42%	34 Untersuchungen 13. VII.—1. IX. 0 oder Spuren. Max.: 0·06		A—G
ins Gesicht	24. IV.	schlecht	1·009	1015	unverbessert 20. VII.		8. V.	Spuren	G
							11. V.	Spuren	
							13. V.	Spuren	
							15. V.	0·03	
0					verbessert 31. V.		21. V.	0·05	C
							22. V.	0·03	
an den Unterschenkeln					† 29. X.		26. IX.	—	A
							27. IX.	—	
0	12. IX.	ziemlich schlecht	1002	1026	nicht symptomfrei 14. X.		10. X.	0·13	F
im Gesicht leicht					† 17. XI.	CO_2: 8. XI. 42% CO_2: 14. XI. 33%	8. XI.	—	C
							11. XI.	—	
							13. XI.	—	
groß an Armen und Beinen					unverbessert 19. II.	Retinitis albuminurica	28. I.	0·16	D
im Gesicht					unverbessert 20 IX.		2. VI.	0·20	A—G
							3. VI.	0·27	
							6. VI.	0·18	
							10. VI.	0·36	
							30. VII.	0·11	
							8. VIII.	Spuren	
							10. VIII.	0·40	
							11. VIII.	0·10	
							12. VIII.	0·07	
							13. VIII.	0·13	
							15. VIII.—3. IX.	Untersuchung jeden Tag; Spuren, mit einzelnen Werten bis auf 0·08	
0	3. VII.	nicht ganz gut	1003	1012	verbessert 17. VII.		26. VI.	0·13	C
							27. VI.	0·15	
							28. VI.	0·21	
							30. VI.	0·32	
0					unverbessert 21. VI.		21. V.	0·14	A
							22. V.	0·23	
							23. V.	0·23	
0	12. VI.	gut	1002	1021	verbessert 26. VII.		11. VI.	0·30	D
							20. VII.	Spuren	E
							24. VII.	0·50	F

Nierenkrankheiten

Nr.	Name	Geschlecht	Alter	Diagnose	Albumin Promille	Sedimente rote	Sedimente weiße	Sedimente zyl.	Blutdruck	Rest-N
40. 1209	A. N.	m.	40	Nephritis subchron.	18. VI. 0·1 27. VI. 0	einzeln einzeln	mäßig einzeln	0 0	165 145	60 40
41. 1389	A. A.	m.	25	Nephritis chron.?	26. 30. VII. Spuren 6. VIII. Spuren	einzeln einzeln	einzeln einzeln	massenhaft einzeln	120	25. VII. 50 7. VIII. 4
42. 1045	K. D.	m.	16	Nephritis chron.	17. V. > 15 4. VI. 1·5 7. VIII. Spuren	reichlich einzeln einzeln	massenhaft massenhaft einzeln	zahlreich 0 0	120 115 115	85 24 33
43. 1738	G. N.	w.	45	Nephritis chron.	6—1·2	zahlreich	einzeln	0	100	44
44. 1387	E. O.	w.	48	Nephritis chron.	8. VIII. Spuren 8. X. Spuren	0 0	einzeln mäßig	0 0	210 195	35 60
45. 79	A. F. J.	m.	17	Nephritis chron.	0·2	einzeln	spärlich	0	120	38
46. 433	E. J.	w.	25	Albuminuria (Nephritis chron.?) + Tbc. pulm.	0·2—0·3	0	0	0	115	37
47. 483	C. A.	w.	32	Nephritis subchron. + Anaemia secundaria	Spuren	spärlich	mäßig	einzelne Fragmente	120	44
48. 418	H. L.	m.	21	Nephritis chron.	1	reichlich	zieml. reichlich	ziemlich reichlich	115	43
49. 269	J. L.	m.	61	Nephritis chron. + Polyarthr. chron. (urica?) + Myxoedema (?)	0	0	0	0	155	55
50. 340	J. A.	m.	42	Nephritis chron.	7	einzeln	reichlich	reichlich	150	30
51. 515	G. L.	m.	20	Nephritis chron.	Spuren	einzeln	einzeln	einzelne Fragmente	135	43
52. 1386	A. A.	w.	77	Nephritis chron.	1—0·7	0	mäßig	zahlreich	130	32
53. 1506	A. B.	w.	35	Nephritis chron.	0	0	einzeln	0	190	30
54. 1795	V. S.	w.	21	Nephritis chron.	0·3	0	einzeln	0	120	30
55. 1983	N. M.	w.	31	Nephritis subchron. (post partum)	0·2	spärlich	einzeln	0	105	42
56. 2026	J. J.	m.	36	Nephritis chron.	Spuren	0	spärlich	zahlreich	140	39

Fortsetzung).

dem	Datum	Wasserprobe: Ausscheidung	Wasserprobe: Verdünnung	Wasserprobe: Konzentration	Entlassungszustand	Bemerkungen	Zitronensäure		Diät
0							18. VI.	0·07	Brot, ungesalzene Butter, Heidelbeeren, Hafersuppe, gekochter Reis.
0					verbessert 6. VII.		27. VI.	0·20	
							28. VI.	0·25	
							29. IV.	0·26	
0					verbessert 29. X.		26. VII.	0·16	A
							29. VII.	0·07	B
							30. VII.	0·13	
							8. VIII.	0·33	E
n Gehtunedeutend 0	6. VII.	(ziemlich) gut	1004	1011	verbessert 27. VIII.		18.—31. V.	Spuren	A
									28. V. B
							4. VI.	0·25	C + 1 Zitrone
							29. VII.	0·39	C
0					verbessert 24. X.		27. IX.	0·56	A
							29. IX.	0·12	
0					verbessert 10. X.		7. VIII.	0·09	D
0							8. VIII.	0·13	G
							3. X.	0·60	
							4. X.	0·25	
0	8. I.	nicht ganz gut	1002	1025	verbessert 18. II.	Leichte Anämie	10. II.	0·28	E
0	19. II.	gut	1002	1023	gut 25. II.		20. II.	0·33 Gr +	C
0	1. III.	ziemlich gut	1002	1025	verbessert 14. III.	Hb. 45 %. R. Blutkörp. 3·7 Mill.	26. II.	0·72	B
0	9. III.	nicht gut	1004	1020	verbessert 16. III.		18. II.	0·25 Gr	B
0	24. 1.	schlecht	1010	1015	verbessert 30. III.		13. II.	0·38	E
0					unverbessert 22. II.		11. II.	0·42	C
0	13. III.	nicht ganz gut	1003	1022	verbessert 8. IV.			0·48	E
0					verbessert 22. X.			> 0·20	D P
0	26. IX.	schlecht	1002	1010	verbessert 1. X.		3 Untersuchungen	etwa 0·20	G
0	29. X.	ziemlich schlecht	1003	1020	verbessert 6. XI.		9. X.	0·48	B
							14. X.	0·52	C
0					verbessert 23. XI.		5. XI.	> 0·20	A
0					verbessert 22. XII.		13. XI.	> 0·20	C

Nierenkrankheiten

Nr.	Name	Geschlecht	Alter	Diagnose	Albumin Promille	Sedimente rote	Sedimente weiße	Sedimente zyl.	Blutdruck	Rest-N
57. 919/30	G.B.	w.	26	Nephritis chron.	9. V. 0·8 11. V. 0·9	0	mäßig	0	130	35
58. 592	A. H.	w.	25	Tbc. pulmon. (Sanat.?) + Nephrosis	10—15	mäßig	reichlich	reichlich	160	9. III. 200 11. III. 150
59. 1342	O. E.	m.	40	Nephrosis chron.	6—7	einzeln	einzeln	einzeln	105	40
60. 1345	I. P.	w.	53	Uraemia (Pathol. anat. Amyloidosis)	3	0	einzeln	0	130	200
61. 942/30	V. L.	m.	31	Nephrosis chron.	21. V. 4·1 23. 5·2	0	0	0	125	2. V. 26
62. 474	A. H.	w.	34	Septicaemia (Pathol. anat.: starke Parenchymdegeneration)	1—2	spärlich	reichlich	0	140	28
63. 1937	M. K.	m.	63	Nephrosis	16	einzeln	mäßig	einzeln	120	26
64. 1953	K. D.	w.	30	Nephrosis chron. (auch Pathol. anatom.)	Spuren	0	zahlreich	zahlreich	200	37
65. 416	Å. R.	m.	44	Nephrosis	7	0	0	mäßig hyal. u. körnige	125	39
66. 558	A. N.	m.	56	Nephrosclerosis c. uraemia (Pathol. anat.: hochgradig nephrosklerotische Restniere)	0·5	spärlich	spärlich	0	230	480
67. 1232/30	J. B.	m.	45	Nephrosclerosis Uraemia.	18. VI. 1·5	einzeln	massenhaft	0	200	300
68. 832	K. F.	w.	63	Nephrosclerosis	4—2	zahlreich	zahlreich	Fragmente	220	50
69. 866	M. N.	w.	21	Uraemia (Pathol. anat.: Nephroscleros. maligna)	4	reichlich	einzeln		225	200
70. 1657	V. R.	w.	57	Nephrosclerosis c. uraemia	0·6—1·5	0	einzeln	einzeln	225	17. IX. 100 30. IX. 86
71. 1703	H. S.	m.	58	Nephrosclerosis maligna + uraemia	20. IX. 4·5 7. X. Spuren	reichlich mäßig	einzeln einzeln	reichlich reichlich	245 210	70 75
72. 1804	E. J.	w.	55	Nephrosclerosis c. uraemia + Diabetes mellitus (Pathol. anat.: Nephrosclerosis)	0·8—7	0	einzeln	einzeln	140	7. X. 33 11. XI. 120
73. 1834	H. T.	m.	58	Nephrosclerosis (Pathol. anatom.: Nephrosclerosis maligna)	2·5—12	mäßig	mäßig	0	250	37

Fortsetzung).

dem	Datum	Wasserprobe: Ausscheidung	Wasserprobe: Verdünnung	Wasserprobe: Konzentration	Entlassungszustand	Bemerkungen	Zitronensäure		Diät
0	5. V.	gut	1·001	1·025	unverbessert 13. V.		9. V. 11. V.	0·38 0·35	E
den nter- chen- keln					unverbessert 30. III.		10. III. 13. III.	0·04 Gr Spuren	C
0					unverbessert 23. VII.		17. VII.—19. VII. 22. VII.	Spuren 0·10	Hafersuppe, Blaubeersuppe, geröstetes Brot, Reis, Butter
0					† 16. VII.	CO_2: 13. VII. 39%	13. VII. 15. VII.	Spuren Spuren	A
0	7. V.	gut	1·000	1·025	verbessert 24. V.		21. V. 23. V.	0·04 0·16	G
0					† 24. III.		3. III.	0·35	F
0	3. XII.	schlecht	1014	1020	verbessert 21. XII.		29. X. 30. X.	1·13 0·90	A
0					† 2. XII.		31. X.	> 0·20	A
0						Leichte Anämie	4. III.	0·59	G
0					† 29. III.	Hb. 45. R. Blutkörp. 2·5 Mill.	5. III. 6. III.	— —	B
0					† 29. VI.		18. VI.	0·03	A
n Ge- cht?					verbessert 14. V.	CO_2: 17. IV. 48%	15. IV. 17. IV.	Spuren 0·04	A
					† 24. IV.	Hb. 38. R. Blutkörp. 2 Mill. CO_2: 28%	22. IV.	0·03	A
0					† 20. X.		19. IX.—8. X. (Max. 0·06 Gr.	Spuren	G
0					† 9. X.		20. IX.—7. X. 15 Untersuchungen	0 oder Spuren	
0					† 15. XI.	CO_2: 3. XI. 42·5% Diabetes von leichtem Charakter	9. X.—8. XI. 27 Untersuchungen Langsam sinkend von etwa 0·10 bis zu Spuren		Butter, Gemüse, Sahne, Brot, Fleisch und Fisch
emlich oß an den nter- chen- keln					† 20. X.		11. X. 13. X. 14. X. 15. X. 17. X. 18. X.	0·17 0·14 Spuren 0·10 Spuren 0·04	A 17. X. C

Nierenkrankheiten

Nr.	Name	Geschlecht	Alter	Diagnose	Albumin Promille	Sedimente rote	Sedimente weiße	Sedimente zyl.	Blutdruck	Rest-N
74. 2079	L. J.	m.	48	Nephrosclerosis (Pathol. anatom.: Nephrosclerosis maligna)	0·8 –1	0	0	0	250	60
75. 1492	E. J.	w.	55	Nephrosclerosis + Diabetes mellitus	6 2	15. VIII. einzeln	reichlich	0	175	50
						20. VIII. 0	0	0	155	43 40
76. 1044/30	A. O.	m.	69	Nephrosclerosis	21. V. 2 22. 0·9 29. 6·5	0	einzeln	0	170 180	15. V. 37
77. 1445	M. N.	w.	32	Nephrosclerosis	Spuren	spärlich	spärlich	0	230	55
78. 1761	E. W.	m.	51	Nephrosclerosis	0	0	einzeln	0	200	29
79. 1689	H. L.	w.	70	Nephrosclerosis	0	einzeln	reichlich	spärlich	170	27
80. 1188	H. O.	w.	55	Nephrosclerosis	Spuren	0	mäßig	0	200	38
81. 2117	A. V.	m.	45	Nephrosclerosis maligna (?)	Spuren	einzeln	einzeln	einzeln	220	52
82. 1904	J. K.	m.	68	Nephrosclerosis + Diabetes mellitus	Spuren	einzeln	spärlich	mäßig	240	27
83. 1175	P. N.	m.	49	Nephrosclerosis	0	0	0	0	200	22
84. 1438	S. A.	w.	50	Nephrosclerosis	0·1 Spuren	0	0	0	250	33

In der Kolonne „Zitronensäure“ wird mit —

daß die klinische Untersuchung im übrigen eine Verschlechterung andeutete. Sechs Fälle wiesen beständig sehr niedrige Werte auf (25, 26, 28 bis 31). Fall 36 zeigte von Tag zu Tag eigentümliche plötzliche Schwankungen zwischen ziemlich hohen und deutlich (bisweilen erheblich) zu niedrigen Werten.

Fortsetzung).

em	Datum	Wasserprobe: Ausscheidung	Wasserprobe: Verdünnung	Wasserprobe: Konzentration	Entlassungszustand	Bemerkungen	Zitronensäure	Diät
cht den ıß- öch.					† 25. XII.	Fieber bis 38·5	25. XI. 0·04 26. XI. schw. Spuren	B
)					26. VIII. stat. quo.	Hb. 59. R. Blutkörp. 2·85 Mill. CO_2: 16. VIII. 53%. H_3N 0·52—1·07 g Diabetes von leichtem Charakter	15. VIII. 0·08 16. VIII. 0·09 18. VIII. 0·08 19. VIII. 0·04 22. VIII. 0·02 25. VIII. 0·03	A + Fett und Gemüse
)					† 21. VI.		21. V. 0·16 22. V. 0·11 29. V. 0·12	F
)					ver-bessert 19. VIII.		10. VIII. 0·25 11. VIII. 0·17 12. VIII. 0·16 13. VIII. 0·10 14. VIII. 0·16	B C
0	16. X.	ziemlich gut	1001	1014	ver-bessert 24. X.		2. X.—23. X. 16 Untersuchungen Durchschnittszahl 0·19 Max. 0·33, Min. 0·08	DP ohne Salz
0					ver-bessert 18. X.		13. X. 0·15 14. X. 0·12 15. X. 0·13 16. X. 0·20	G
0					ver-bessert 22. VI.		12. VI. 0·15	DP
0					ver-bessert? 21. XII.		28. XI. > 0·20	A
cht ß an den ter- nenk.					ver-bessert 30. XI.		23. X. 0·39 24. X. 0·72	Sahne, Brot, Gemüse, Butter.
0					ver-bessert 3. VII.		26. VI. 0·35 27. VI. 0·50	Brot, Obst, Gemüse, Eier, Milch, Zucker.
0	27. VIII.	ziemlich schlecht	1003	1015	ver-bessert? 3. VIII.		7. VIII. 0·30 8. VIII. 0·30	A B

n vollkommen negativer Befund bezeichnet.

Acht der untersuchten Patienten hatten die Diagnose Nephrosis. An vier von diesen wurde ein normaler Zitronensäuregehalt des Harns gefunden (62 bis 65). Von den drei, die stark erniedrigte Werte hatten, starb einer, und der Zustand der beiden anderen hatte sich während des Aufenthaltes im Krankenhaus nicht gebessert. (Von den vier mit normalen

Werten starben zwei, für die letzten Wochen ihres Lebens fehlen aber Untersuchungen.) Mit der Diagnose Nephrosklerosis sind 19 Fälle untersucht worden. Von diesen waren mit Hinsicht auf die Zitronensäureausscheidung nur vier normal (81 bis 84). Die sechs Fälle, die einen urämischen Zustand aufwiesen (66, 67, 69 bis 72), hatten alle kaum bestimmbare Zitronensäuremengen im Harn. Vier Fälle zeigten bei wiederholten Untersuchungen deutlich und oft stark erniedrigte Werte, während die übrigen fünf nur eine gelinde Senkung der Zitronensäureausscheidung aufwiesen.

Die hier oben vorgenommene Einteilung stützt sich auf die Diagnosen, die in den Krankenhausabteilungen gestellt worden sind. Wenn man sämtliche hier angeführten Fälle von Nierenkrankheiten ohne Rücksicht auf die detaillierte Diagnose betrachtet, ergibt sich folgendes: Zehn Fälle zeigten klinische Symptome der Urämie, und alle diese hatten vollständig oder fast vollständig aufgehobene Zitronensäureausscheidung. Zehn andere, die auch gleich niedrigen Zitronensäuregehalt des Harns erwiesen, hatten alle eine ernste Beschädigung der Nieren, die sich in anderen Symptomen zu erkennen gab (2, 25, 26, 28, 30, 31, 48, 58, 68, 74). Ein direkter Zusammenhang mit einem speziellen Nieren-Beschädigungssymptom kann nicht nachgewiesen werden. Hoher Albumingehalt ist mit normalem und sogar hohem Zitronensäuregehalt vereinbar (50, 53, 65), und eine nicht zufriedenstellende Wasserprobe schließt einen normalen Zitronensäuregehalt nicht aus (21, 49 doch nicht gleichzeitig untersucht. 63 u. a.). Dies gilt auch für das Vorkommen von reichlichem pathologischem Sediment (20, 48, 52). Mit diesen Ausnahmen mag jedoch im allgemeinen gesagt werden, daß die 25 Fälle mit normalem Zitronensäuregehalt ein relativ benignes Nierenleiden zeigen. Doch soll nicht verneint werden, daß es auch unter den Fällen mit nur einzelnen oder mäßig erniedrigten Werten anscheinend gleich benigne gibt. Eine wesentliche Erhöhung des Reststickstoffes, über 60 bis 70 mg (Folins Methode) kommt indessen niemals ohne beträchtliche Verminderung der Zitronensäureausscheidung vor.

In einigen Fällen trat gleichzeitig mit einer klinischen Verbesserung eine deutliche Erhöhung der Zitronensäureausscheidung auf (8, 14, 42, 44), in anderen folgte auf eine klinische Verschlechterung ein Sinken der Zitronensäurewerte (72, 73). Eine ähnliche Tendenz ist in mehreren anderen Fällen wahrzunehmen; die Beobachtungen in der einen oder anderen Gruppe sind indessen zu gering an Zahl, um einen bestimmten Schlußsatz zu gestatten. Allerdings gibt es auch hiergegen einzelne Ausnahmen angedeutet, im allgemeinen scheint aber die Zitronensäureausscheidung mit dem funktionellen Zustand der Nieren ziemlich parallel zu gehen. Sie dürfte jedoch keine der für Nierenbeschädigungen empfind-

licheren Funktionen darstellen, sondern wird erst bei tiefergehenden Veränderungen beeinflußt.

Daß Nierenkrankheiten Störungen im Säure Basen-Gleichgewicht verursachen können, ist ja eine seit langem bekannte Erscheinung. Schon 1888 fand v. Jaksch eine verminderte Alkaleszenz im Venenblut von Patienten mit Urämie. Diese Beobachtung ist später von anderen, namentlich von Brandenburg (1899) verifiziert worden. Nachdem genauere Methoden zur Beurteilung der Störungen im Säure Basen Gleichgewicht ausgearbeitet worden sind, sind diese auch bei Untersuchungen von Nierenkranken zur Verwendung gelangt. So studierten Straub und Schlayer (1912) die Kohlensäuretension der Alveolarluft, die an Patienten mit Nephritis oft abnorm niedrig gefunden wurde. Auch Mac Nider (1920) fand an Ratten mit experimenteller Nephropathie Symptome der Störungen im Säure Basen-Gleichgewicht gleichzeitig mit der Albuminurie und mit Verschlechterungen in der Nierenfunktionsprobe. Bei Untersuchung von etwa 50 Patienten mit verschiedenen Arten von Nierenkrankheiten fand Straub (1923) häufig eine Senkung der Kohlensäurebindungskurve des Blutes. Henderson und Palmer (1915), sowie Palmer und Henderson (1915) kamen, auf Harnuntersuchungen an 44 Fällen von Nephritis gestützt, zu dem Schlußsatz, daß „Nephritis gewöhnlich einen Zustand von Acidosis darstellt". Sie fanden das pH des Harns in der Regel stark vermindert, sowie die Ammoniakausscheidung in allen Fällen erniedrigt, welchem letzteren Umstand sie große kausale Bedeutung zuschrieben.

Sowohl die genannten Untersucher, wie mehrere andere (Blum, Delaville und Caulaert 1925, Bulgar, Peters, Eisenman und Lee 1926, Salvesen 1928) heben hervor, daß diese Störung, obgleich sehr häufig, doch kein regelmäßiges Symptom bei Nierenkrankheiten ist. Eine bestimmte Übereinstimmung mit den klinischen Diagnosen wird nicht erhalten. Henderson und Palmer versuchen auf Grund des Verhaltens verschiedener Harnbestandteile verschiedene Gruppen zu unterscheiden. Bulgar, Peters, Eisenman und Lee betrachten Acidosis (im Sinne von van Slyke-Cullen 1917) als ein regelmäßiges Symptom im späteren Verlauf von chronischer interstitieller und arteriosklerotischer Nephritis. Und Salvesen betont, daß Niereninsuffizienz die Voraussetzung der Entstehung der Acidosis bei Nephritis ist.

Daß auch mehrere von den hier angeführten Fällen eine Störung im Säure-Basen-Gleichgewicht gezeigt haben, ergibt sich bei der Untersuchung der Kohlensäurekapazität (23, 29, 34, 60, 69, 72). In jenen Fällen, wo sich diese abnorm niedrig zeigte, war auch die Zitronensäureausscheidung äußerst gering. Auf Grund dieser Erscheinung kann sicherlich angenommen werden, daß schwere Formen von Nierenbeschädigung, und ganz besonders

Urämien, häufig in dieser Weise die Zitronensäureausscheidung beeinflussen. Ein Vergleich zwischen den Umständen, bei denen die Zitronensäureabnahme sich zu erkennen gibt, und denen, bei welchen laut den Literaturangaben Acidosis bei Nierenkrankheiten aufzutreten pflegt, ergibt einige Ähnlichkeiten. Für beide gilt, daß sie häufige, aber nicht regelmäßige Symptome sind, die nicht direkt einigen bestimmten klinischen Typen von Nierenkrankheiten folgen. Sie sind am häufigsten bei chronischer interstitieller und arteriosklerotischer Nephritis (die hier zusammengestellte Gruppe Nephrosklerose dürfte dieser Bezeichnung entsprechen können). In jenen Fällen, wo sich die Niereninsuffizienz, die die Voraussetzung des Auftretens der Acidosis ist, in einer deutlichen Erhöhung des Reststickstoffes zu erkennen gibt, ist regelmäßig eine verminderte Zitronensäureausscheidung zu finden. Indessen kommen niedrige Zitronensäurewerte vor, ohne daß eine Störung im Säure Basen-Gleichgewicht in einer verminderten Kohlensäurekapazität (26, 68, 75) oder in einer besonders hohen Wasserstoffionenkonzentration des Harns zum Ausdruck kommt. Wahrscheinlich sind Störungen im Säure–Basen-Gleichgewicht nicht die einzige Ursache einer verminderten Zitronensäureausscheidung bei Nierenkrankheiten. Man könnte sich auch vorstellen, daß ein spezifisch mangelhaftes Vermögen, Zitronensäure auszuscheiden (oder zu produzieren), vorhanden ist.

Solchenfalls würde eine Zufuhr von Alkali keine Zunahme der Zitronensäureausscheidung hervorrufen können. In einigen Fällen von schweren Nierenstörungen mißlangen infolge Erbrechens die Versuche, Bikarbonat per os zuzuführen. In einem anderen Fall wurde die Zitronensäureausscheidung bei täglicher Zufuhr von 10 g Bicarbonat bis zu normalen hohen Werten (1·0 g) gesteigert, nachdem sie während der Vorperiode konstant niedrige Werte gezeigt hatte.

Von den untersuchten 25 Fällen von Pneumonia cruposa haben nur zwei (1718, 1990) vollkommen normale Zitronensäurewerte gezeigt. Die übrigen 23 haben mehr oder weniger deutliche subnormale Werte aufgewiesen. Diese treten offenbar schon während des hochfebrilen Stadiums auf, auch nach der Resolution dauert es aber in der Regel lange, bevor die normale Zitronensäureausscheidung in Gang kommt. Die starke NaCl-Ausscheidung, die dann im unmittelbaren Anschluß an die Krisis aufzutreten pflegt, mag natürlich senkend auf die schon früher niedrigen Werte einwirken, so daß eine Korrektion der gefundenen Resultate nach oben vorgenommen werden dürfte (vgl. die Untersuchungen im Kapitel „Kritik der Methoden"). Größere Bedeutung kann sie jedoch nicht besitzen, und das Prinzipielle, daß die kruppöse Pneumonie in der Regel mit einer erheblichen Senkung der Zitronensäureausscheidung einhergeht, wird durch diesen Umstand nicht verändert. (Tabelle S. 116–118.)

Störungen im Säure Basen-Gleichgewicht bei Pneumonien sind von vielen Forschern nachgewiesen worden, auch wenn sie nicht regelmäßig dabei vorkommen. Eine Zunahme der titrierbaren Azitität und des Ammoniakgehaltes des Harns (Palmer 1917), sowie eine Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration des Arterienblutes (Means, Bock und Woodwell 1921, Barach, Means und Woodwell 1922) ist beobachtet worden.

Straub (1924) faßt seine Erfahrungen in der Ansicht zusammen, daß im Blute bei Pneumonie ein unbekanntes Anion in recht hoher Konzentration auftritt und einen Zustand hervorruft, „die man in der älteren klinischen Literatur als Acidosis bezeichnet hat".

Die verminderte Zitronensäureausscheidung bei Pneumonie mag also sicherlich in vielen Fällen durch diese Störung des Säure Basen-Gleichgewichtes verursacht sein. Es wäre allerdings vorteilhafter gewesen, wenn in jedem besonderen Fall geprüft worden wäre, ob Parallelität zwischen der geringen Zitronensäureausscheidung und anderen Zeichen für eine derartige Störung bestände. Die wenigen Untersuchungen des pH des Harns, die in diesen Fällen ausgeführt worden sind, zeigen keine deutliche solche Übereinstimmung.

Eine andere Ursache, die auch Bedeutung haben kann, ist die Beeinflussung der Nieren, die bei Pneumonie vorkommt. Eine Parallelität mit der Albuminurie tritt indessen nicht zutage, und die Untersuchungen über Nephriten liefern keine Stütze für die Annahme, daß eine so gelinde Nierenbeeinflussung, wie sie die Pneumonie in der Regel verursacht, die einzige Ursache der verminderten Zitronensäureausscheidung sein sollte.

Vielleicht ist die Entstehung der niedrigen Werte in der Weise zu erklären, daß eine Kombination von Säureüberschuß im Organismus und Nierenbeeinflussung verringernd auf die Ausscheidung wirkt, wozu der hohe Kochsalzgehalt in gewissen Fällen aus technischen Gründen sie ferner herabdrückt. Man hat aber wohl Gründe zu vermuten, daß das regelmäßige Auftreten dieses Symptoms bei einer so spezifischen Krankheit wie kruppöse Pneumonie eine bestimmtere Ursache hat.

Diabetespatienten, von denen eine ziemlich große Anzahl untersucht worden ist, zeigen in gewöhnlichen Fällen normalen Zitronensäuregehalt. Nur in den Stadien von Acidosis ist der Zitronensäuregehalt des Harns erniedrigt. Hier (S. 119) werden die Ergebnisse der Resultate von Untersuchungen an Patienten mitgeteilt, die Zeichen für Acidosis aufgewiesen haben. Wie es aus diesen hervorgeht, ist der Zitronensäuregehalt während des acidotischen Zustandes erniedrigt. Wenn sich die Krankheit bessert und die Acidosissymptome abnehmen, folgt damit eine Erhöhung der Zitronensäureausscheidung. Dies steht in vollkommener Übereinstim-

Nr. u. Name	Geschlecht	Alter	Diagnose	Erkrankungstag	Verlauf	Datum	Temp. in °C	Acid. citr. g	Harn-pH
1995 E. W. 28	w.	19	Pneum. crup. migrans	16. XI.	Hohe Kontinua. Stark beeinflußt. Tod 8. XII.	5. XII.	40	0·11	
1003 K. H.	w.	36	Pneum. crup. c. resolut. tarda	5. V.	9. V.—14. V. hoch febril, dann langsam sinkend	3. VI.	Subfebr.	0·03	
						4. VI.	,,	0·04	
1050 A. M.	m.	44	Pneum. crup.	17. V.	Lysis 21. V.—24. V.	23. V.	37·5	0·15	
1149 J. Å.	w.	43	Pneum. crup. Thrombos. V. Femoral.	31. V.	Langsam sinkende Temp.	20. VI.	38·0	0·05	
1227 K. J.	w.	30	Pneum. crup.	15. VI.	Lysis 20. VI.—21. VI.	19. VI.	40	0·03	
						20. VI.	39—38	Spuren	
						26. VI.	afebr.	0·08	
						27. VI.	,,	0·34	
1253 V. S.	w.	17	Pneum. crup.	22. VI.	Pseudokrise 28. VI.	27. VI.	40·0– 39·6	Spuren	
						28. VI.	37·0– 39·2	,,	
						29. VI.	38·3—37·9	,,	
						1. VII.	37·0—37·4	,,	
						2.	afebril	,,	
						3.	,,	0·06	
						4.	,,	0·25	
						5.	,,	0·05	
						6.	,,	0·27	
						7.	,,	0·09	
						8.	,,	0·10	
						9.	,,	0·20	
						10.	,,	0·23	
						11.	,,	0·23	
						12.	,,	0·27	

1718	G. L.	m.	14	Pneum. crup. c. Empyema pleurae	22. IX.	Kontinua 40—41 Grade vom 22. IX. bis 27. IX. Kontinua 39—40 Grade vom 28. IX. bis 2. X.			Vom 23. IX. bis 2. X.: Werte zwischen 0·20—0·40	Min. 5·52 Max. 6·92
1780	G. K.	w.	36	Pneum. crup.	29. IX.	Langsam sinkende Temp.	4. X.	38·8- 40·1	0·11	5·76
							6.	38·1— 39·3	0·12	
							7.	38·4— 38·6	0·15	7·04
							8.	38·0—39·2	0 21	6·38
1833	N. L.	m.	57	Pneum. crup. Sepsis?	4. X.	Unregelm. langs. sinkendes Fieber	11.	37·8—38·3	0·05	
1857	G. L.	m.	18	Pneum. crup. c. Empyema pleurae	13.	Kontinua bei 40 Grad bis 21. X.	17.	39·8 39·9	0·07	5·99
							18.	40·4 39·8	0·22	5·85
							19.	39·7—39·9	0·40	5·99
1865	H. A.	m.	13	Pneum. crup. c. Empyema pleurae	16.	Krise 19. 20. X., dann neuerdings Fieber	17.	39·0— 40·4	0·15	6·32
							18.	40·1 40·4	0·15	5·83
							20.	38·2— 37 0	0·18	7·18
							21.	38 4— 39·0	0·18	
							22.	38·6—39·3	0·13	
							24.	38·6—38·7	0·08	
1883	P. N.	m.	47	Pneum. crup.	15.	Tod 23. X.	20.	40·4—40·6	0·12	
							21.	40·6- 39·8	0·07	
							22.	40·8—40·5	0·07	
1926	E. J.	m.	34	Pneum. crup.	22.	Lysis 26.—28. X.	28.	37·4—37·6	0·14	
							29.	afebril	über 0·20	
							4. XI.	,,	0·16	
1933	M. M.	w.	16	Pneum. crup.	21.	Krise 27.- 28. X.	29. X.	subnormal	0·16	
							31.	,,	0·12	
							1. XI.	,,	über 0·20	
1963	F. L.	m.	60	Pneum. crup.	28.	Hohe Kontinua Tod 5. XI.	3.	40·1—39·9	0·12	
							4.	40·6—40·3	0·08	
1978	O. N.	m.	40	Pneum. crup.	3. XI.	Lysis 8.—10. XI.	6.	40·2—40·6	0·18	
							8.	38·7—39·3	0·15	

Nr. u. Name	Geschlecht	Alter	Diagnose	Erkrankungstag	Verlauf	Datum	Temp. in ° C	Acid. citr. g	Harn-pH
1990 F. P.	m.	19	Pneum. crup. c. Pleurit. exs.	31. X.	Lysis 7.—9. XI.	7. XI.	39·3—39·0	über 0·20	
2000 M. E.	w.	46	Pneum. crup.	3. XI.	Lysis 9.—11. XI.	8. 12. 14.	39·8—40·0 afebril „	Spuren 0·11 0·14	
2003 G. L.	m.	20	Pneum. crup. c. Pleurit. exs.	5.	Lysis 9.—14. XI.	9.	40·4—38·6	0·19	
2033 N. N.	m.	48	Pneum. crup.	9.	Lysis 16.—19. XI.	15.	39·6—39·7	0·17	
2075 K. S.	w.	31	Pneum. crup.	18.	Lysis 21.—24. XI.	23. 26. 27. 28.	38·4—38·2 afebril „ „	0·16 0·15 0·09 0·15	
1104 30 J. P.	m.	13	Pneum. crup.	22. V.	Krisis 28. V.	29. V. 2. VI.		0·07 0·12	
1132 30 H. T.	w.	46	Pneum. crup.	23. V.	Hohe Kontinua, Tod 30. V.	29. V.		0·17	
1155 30 A. O.	w.	72	Pneum. crup.	30. V.	Hohe Kontinua, Tod 9. VI.	4. VI.		0·10	
1201 30 E. T.	w.	78	Pneum. crup.	6. VI.	Hohe Kontinua, Tod 16. VI.	12.		0·05	

mung mit den Verhältnissen bei den experimentell hervorgerufenen Störungen des Säure Basen-Gleichgewichtes. Daß die diabetischen Stoffwechselstörungen im übrigen einen Einfluß auf die Zitronensäureausscheidung besitzen sollten, geht aus den Untersuchungen nicht hervor.

Diabetes mellitus.

Nr.	Name	Geschlecht	Alter	Datum	Blutzucker	Harnzucker	H_2N	Azeton	CO_2 %	Bemerkungen	pH Harn	Zitronensäure
1278	A. J.	w.	39	1. VII.	0·16	6·4	2·69	1·53	46	CO_2 29. VI. 31 Proz.	—	0·10
				2.	0·19	3·7	1·31	0·55	—	—	—	0·04
				3.	0·18	8·0	1·78	0·94	—	—	—	0·05
				4.	0·12	9·2	1·33	0·53	—	—	—	0·07
				5.	0·12	0	1·28	0·58	—	—	—	0·11
				6.	0·09	0	1·10	0·49	—	—	—	0·12
				7.	0·13	0	1·00	0·66	—	—	—	0·15
				8.	0·09	0	1·99	0·99	—	—	—	0·19
				9.	0·09	0	1·21	0·89	—	—	—	0·28
				14.	0·11	0	0·40	0·31	—	—	—	0·45
				15.	0·11	0	0·92	0 30	—	—	—	0·52
1601	P. H.	m.	55	5. IX.	0·23	70·6	2·73	0·77	43	—	—	0·18
				6.	0·23	114·2	2·72	1·39	—	—	—	0·10
				7.	0·21	65·0	—	—	—	—	—	0·10
				8.	0·20	179·0	3·98	1·85	—	—	—	0·10
				9.	0·21	7·6	3·61	1·95	41	—	—	0·09
				10.	0·19	0	2·71	1·47	—	—	—	0·07
				11.	0·19	0	3·09	0·62	—	—	—	0·11
				12	0·18	0	2·07	0·81	—	—	—	0·13
				13.	0·16	0	2·11	0·81	—	—	—	0·10
				15.	0·17	0	1·79	2·77	—	—	—	0·15
				16.	0·15	0	1·88	3·84	—	—	5·92	0·18
1636	T. S.	m.	28	10. IX.	0·21	45·3	1·58	0·78	—	CO_2 9. IX. 39 Proz.	—	0·08
				11.	0·24	77·6	3·11	1·13	—	—	—	0·08
				12.	0·22	10·5	2·48	0·77	—	—	—	0·14
				13.	0·22	32·9	1·43	0·60	—	—	—	0·13
				15.	0·22	37·5	2·23	0·83	—	—	—	0·13
				16.	0·21	24·1	2·24	0·66	—	—	—	0·09
				17.	0·20	21·4	1·19	0·75	—	—	5·76	0·12
				18.	0·21	26·3	1·51	0·41	—	—	5·94	0·12
				19.	0·19	20·9	1·46	0·31	—	—	—	0·13
				20.	0·19	21·4	1·54	0·48	—	—	5·94	0·13
				21.	0·19	—	—	—	—	—	5·78	0·20
				22.	0·20	25·4	1·62	0·22	—	—	5·99	0·16
				23.	0·19	21·4	0·89	0·32	—	—	6·01	0·16
				24.	0·17	19·6	1·96	0·35	—	—	5·75	0·17

Diabetes mellitus (Fortsetzung).

Nr.	Name	Geschlecht	Alter	Datum	Blutzucker	Harnzucker	H_3N	Azeton	$(CO_2$ %	Bemerkungen	pH Harn	Zitronensäure
1653	T. M.	w.	26	11. IX.	0·39	92·4	1·08	0·79	—	Tiefatmung		schw. Sp.
				12.	0·26	23·2	2·47	5·74	—	—	—	Sp.
				13.	0·32	49·3	2·53	7·72	29	—	—	Sp.
				14	0·29	42·9	2·19	—	—	—	—	Sp.
				15.	0·24	20·0	3·09	7·55	—	—	—	Sp.
				16.	0·13	0	1·55	3·87	—	—	5·66	0·03
				17.	0·09	0	0·90	1·95	—	—	6·21	0·03
				18.	0·18	0	1·83	4·31	—	—	5·80	0·06
				19.	0·20	2·88	0·88	2·01	—	—	—	0·03
				20.	0·16	0	1·33	2·94	—	—	5·61	0·07
				22.	0·14	0	0·63	1·82	—	—	5·78	0·23
				23.	0·13	0	0·58	1·73	—	—	5·62	0·30
1750	H. B.	w.	30	29. IX.	0·24	—	0·50	0·77	—	CO_2 28. IX. 16 Proz.	—	Sp.
				30.	0·19	6·08	0·05	0·29	—	—	—	Sp.
				2. X.	0·29	0	0·10	0·01	—	—	—	Sp.
				3.	0·27	0	0·14	0·06	—	—	—	Sp.
				4.	0·40	0	0·23	0·02	—	—	—	Sp.
				5.	0·13	0	0·27	0·02	—	—	—	Sp.
				6.	0·25	0	0·31	0·01	—	—	—	schw. Sp.
				7.	0·14	0	0·60	0·21	—	—	—	schw. Sp.
				8.	0·15	0	0·44	0·16	—	—	—	Sp.
				9.	0·10	0	0·75	0·20	—	—	5·24	Sp.
				10.	0·23	0	1·05	0·08	—	—	5·23	Sp.
				11.	0·20	0	1·02	0·03	—	—	—	0·02
				13.	0·20	0	0·37	0·09	—	—	5·36	Sp.
				14.	0·18	0	0·80	0·05	—	—	5·56	Sp.
				15.	0·23	0	0·91	0·07	—	—	5·47	0·05
				16.	0·11	0	0·71	0·06	—	—	5·47	0·06
				17.	0·20	0	0·59	0·04	—	—	5·47	0·07
				18.	0·15	0	0·71	0·06	—	—	5·47	0·06
				20.	0·13	0	0·34	0·02	—	—	6·11	0·10
				21.	0·20	0	0·64	0·09	—	—	—	0·10
				22.	0·13	0	0·39	0·02	—	—	—	0·04
				23.	0·12	0	—	—	—	—	—	0·08
				24.	0·15	0	—	—	—	—	—	0·31
	A.A.	w.	20	7. V.	0·31	52	—	—	32	Atmung etwas zu tief	—	0
				8.	0·26	48	4·20	0·60	—	Gerhardt +++	—	Sp.
				9.	0·31	30	1·41	0·37	—	Gerhardt +++	—	0
				11.	0·21	26	2·39	0·82	41	—	—	Sp.
				12.	0·14	16	2·54	0·87	—	—	—	0·18
				13.	0·17	20	1·71	0·87	—	—	—	0·14
				15.	0·28	53	1·52	0·50	—	—	—	0·22
				16	0·21	16	2·61	1·20	—	—	—	0·09
				18	0·13	0	1·61	—	—	—	—	0·29
				6. VI.	0·15	0	1·10	—	—	—	—	0·18

Von den Blutkrankheiten zeigen die hämorrhagischen Diathesen mit oder ohne Thrombopenie am regelmäßigsten verminderte Zitronensäurewerte im Harn. Vier von fünf untersuchten Fällen zeigten sehr niedrige Werte. In einigen von diesen war das Allgemeinbefinden sehr gut und die Anämie nicht besonders hervortretend. In dem Fall, wo eine Milzexstirpation ausgeführt wurde (895 V. S.), kehrte die Zitronensäureausscheidung im Zusammenhang mit dem Verschwinden der Symptome der hämorrhagischen Diathese auf das Normale zurück, trotzdem die Anämie während dieser Zeit etwas zugenommen hatte.

Bei perniziöser Anämie kommt zuweilen eine Zitronensäureausscheidung vor, doch bei weitem nicht regelmäßig. Ein direkter Zusammenhang zwischen dem Grade der Anämie und der Abnahme der Zitronensäureausscheidung ergibt sich nicht mit Sicherheit, ist jedoch in einem Fall angedeutet (1266 H. B.). Bemerkenswert ist die ab und zu auftretende schnell einsetzende Ausscheidung von relativ großen Zitronensäuremengen nach Perioden von äußerst unbedeutender Ausscheidung. Größere Veränderungen im Äußeren der Patienten sind hierbei nicht vorgekommen.

Die untersuchten Fälle von myeloischer und lymphatischer Leukämie haben alle normale Werte gezeigt.

Viele Untersuchungen sind in bezug auf das Säure-Basen-Gleichgewicht bei Anämien ausgeführt worden. Die erhaltenen Resultate zeigen sich nicht übereinstimmend. Sowohl normales Gleichgewicht wie Störungen nach der alkalischen oder sauren Seite hin sind verzeichnet worden. Daß die letztgenannte Störung bei perniziöser Anämie vorkommen kann, ergibt sich aus Untersuchungen von Gettler und Lindeman 1920, Ashby 1925 und Becker und Tötterman 1926, um einige der umfangreicheren Arbeiten zu nennen. Laut Odaira 1923 sollte das Auftreten der Acidosis bei einem gewissen Grad von Anämie (nicht nur perniziöser) einsetzen: dies sowohl bei Patienten (rote Blutkörperchen unter 3 Mill.) wie bei Versuchstieren (Hämoglobingehalt unter 40 Proz.). So schematisch dürften sich die Verhältnisse nicht gestalten, sicher ist aber, daß bei leichteren Graden von Anämie das Säure-Basen-Gleichgewicht normal ist. Ob die hämorrhagischen Diathesen in dieser Hinsicht eine Störung aufweisen, ist unbekannt.

Es ist möglich, daß die hier registrierte Verminderung der Zitronensäureausscheidung in gewissen Fällen mit einer verminderten Alkalireserve im Zusammenhang zu setzen ist, da aber Untersuchungen hierüber nicht ausgeführt worden sind, kann nichts Bestimmtes gesagt werden. In einem Fall von perniziöser Anämie (1266 H. B.) wurde eine Untersuchung der Kohlensäurekapazität in einem Stadium von hochgradiger Anämie ausgeführt, wobei die Zitronensäureausscheidung stark herabgesetzt war. Sie wurde indessen nicht vermindert gefunden. Das pH des

Nr. u. Name	Geschlecht	Alter	Diagnose	Datum	Hb	Rote		Zitronensäure g	Harn pH
1266 H. B.	w.	62	Anaemia perniciosa	12. VII.	24	650000	12. VII. Bluttransfusion 460 ccm Zitratblut	12. VII. Spuren	
								13. „	
								14. „	
								15. „	
								16. „	
								17. „	
								18. „	
								19 0·12	
								20. 0·14	
								21. 0·08	
								22. 0·06	
								23. 0·09	
								24. 0·04	
				25.	25	990000		25. 0·11	
				31.	19	790000	1. VIII. Bluttransfusion 500 ccm Zitratblut	26. VII.—2. IX. Spuren	
				18. VIII.	30	1400000	28. VIII. CO_2: 50 Proz.		
				2. IX.	41	1700000		8. IX. 0·25	
								9. 0·09	
				10.	52	2100000		10. 0·08	
								11. 0·15	
								12. 0·13	
								13. 0·13	
								15. 0·28	6·23
				17.	63	2600000		16. 0·18	5·80
								17. 0·14	5·49
								18. 0·16	
1328 A. J.	w.	51	Anaemia perniciosa	4.	53	1860000		4. 0·24	
								5. 0·28	
								6. 0·28	

2019	K. O.	m.	71	Anaemia perniciosa	10. XI.	45	1500000		10. XI. über 0·20	
46/30	E. A.	w.	68	Anaemia perniciosa	29.	31	998000		30. Spuren	
					3. XII.	32	1200000		6. XII. 0·03	
									7. 0·02	
55/30	E. R.	w.	67	Anaemia perniciosa	3.	86	2600000		4. 0·15	
									5. 0·16	
									7. 0·17	
922	E. P.	w.	49	Anaemia gravis	15. VI.	58	3000000	Thrombozyten 115000	11. VI.—20. VI. Spuren	
									22. VI. 0·40	
									23. 0·15	
									24. 0·15	
									25. VI.—2. VII. Spuren	
					3. VII.	70	3340000		3. VII. 0·32	
									4. 0·20	
									5. 0·08	
895	V. S.	w.	14	Essentielle Thrombopenie	25. VI.	91	5300000	Thrombozyten 6000	27. VI.—1. VII. Spuren	
				Hämorrhagische Diathese	18. IX.	70	3450000	1. VIII. Milzexstirpation Thrombozyten 211000	18. IX. 0·55	
									20. 0·72	6·13
1307	V. L.	w.	23	Septicaemia ? c. purpura haemorrh.	6. VII.	84	4500000	Thrombozyten 201000	46 Untersuchungen vom 7. VIII. 25. IX. Spuren mit einzelnen Werten bis zu 0·07	Nicht erniedrigt
				Nephritis chron. Anaemia secund. (Siehe Tab. Nierenkrankheiten Nr. 26)	9. IX.	60	3300000			
					20. IX.	55	3000000			
1624	K. M.	m.	48	Purpura haemorrh. non thrombopenica	6. IX.	78	3900000	Thrombozyten 267000	16 Untersuchungen vom 11.—30. IX. 0·05—0·10 die ganz. Zeit. Mittelwert 0·07	
					24. IX.	85	4950000			

Blutkrankheiten (Fortsetzung)

Nr. u. Name	Geschlecht	Alter	Diagnose	Datum	Hb	Rote		Zitronensäure g		Harn pH
1736 H. O.	w.	34	Diathesis haemorrh. (Skorbut?)	3. X.	31	2200000	Thrombozyten 331200	3. X.	0·05	7·56
				4.	31			4.	0·03	5·76
				6.	27			6.	0·03	
				7.	25	1500000		7.	0·06	6·09
				8.	25	1540000		8.	0·10	6·25
				9.	28	1830000		9.	0·11	5·97
				10.	30	2000000		10.	0·14	6·26
				13.	37	2470000		13.	0·14	6·33
								14.	0·10	5·97
								15.	0·22	7·11
				16.	37	2490000		16.	0·14	6·33
670 G.M. P.	w.	21	Menorrhagia thrombopenica	27.	51	2550000		27.	0·56	
								28.	0·36	
								29.	0·54	
								30.	0·56	
1143/30 O. L.	w.	32	Anaemia perniciosa	1. VI.	60	2360000		1. VI.	über 0·20	
1178/30 H. O.	w.	82	Anaemia perniciosa	9.	61	3160000		9. VI.	Spuren	
								11.	0·03	
								13.	0·17	
				19.	65	3340000		19.	0·13	
1223/30 J. F.	w.	58	Anaemia perniciosa	16.	44	1510000		16. VI.	über 0·20	
A. J.	w.	39	Anaemia perniciosa	12.	88	4370000		12. VI.	0·50	

Harns zeigt im Fall 1736 H. O. Schwankungen, die oft in gleiche Richtung gehen, wie die Schwankungen der Zitronensäureausscheidung. Es gibt jedoch keinen bestimmten Grund in den Fällen mit nur mäßig gesenkten Blutwerten, eine Störung im Säure Basen-Gleichgewicht als Ursache der stark verminderten Zitronensäureausscheidung anzunehmen.

Da die hämorrhagische Diathese keine ätiologisch einheitliche Krankheit darstellt, sondern eher als ein Symptom aufzufassen ist, kann es in gewissem Maße Erstaunen erwecken, daß hierbei so häufig wie in vier von fünf Fällen eine deutlich verminderte Zitronensäureausscheidung vorhanden ist. Natürlich sind aber bisher allzu wenige Fälle untersucht, um eine Diskussion dieser Erscheinung berechtigt zu machen.

18 Patienten mit Herzkrankheiten im Inkompensationsstadium sind untersucht worden. Von diesen hatten elf eine vollkommen normale Zitronensäureausscheidung, was bei wiederholten Untersuchungen beobachtet worden war. Die mit den übrigen erhaltenen Resultate können der untenstehenden Tabelle entnommen werden.

Nr.	Name	Geschlecht	Alter	Datum	Zitronensäure in g
880	A. A.	m.	66	29. V.	0·35
				1. VI.	0·04
				3.	<0·04
				6.	0·12
1096	S. V.	m.	70	2.	0·12
				4.	0·14
				6.	>0·20
				7.	>0·20
980	A. H.	w.	39	30. V.	schw. Spuren
				3. VI.	Spuren
				5.	Spuren
				11.	>0·20
1001	E. J.	w.	40	30. V.	0·10
				2. VI.	>0·20
1083	A. F.	w.	45	30. V.	0·16
1935	T. N.	w.	60	28. X.	0·18
				29.	0·18
				30.	0·12
2123	J. P.	w.	42	29. XI.	0·12

Wie sich aus diesem Bericht ergibt, ist bei Inkompensation einer Verminderung der Zitronensäureausscheidung nicht gewöhnlich, und wenn eine solche vorhanden ist, zeigt sie sich auch nicht hochgradig oder konstant.

Eine bestimmte Relation zwischen dem Grade der Inkompensation und der Verminderung hat nicht festgestellt werden können.

Nr.	Name	Geschlecht	Alter	Diagnose		Zitronensäure g		Harn pH
1. 205.	F. A.	m.	23	Septicaemia.	Langdauerndes hohes Fieber. 0 Alb. Anämie.	8. III.	0·11	
2. 1018b.	E. S.	w.	23	Septicaemia.	Langdauerndes Fieber. 0 Alb. Leichte Anämie.	4. VI.	0·21	
						5.	0·12	- -
						6.	0·19	—
						7	0·10	
						25.	0.15	-
3. 1649.	K. A.	w.	54	Endocarditis verrucosa ¬ Emboliae cerebri + Infarkt. pulmon.	Beeinflußtes Allgemeinbefinden. Rezidivierend. Fieber. Tod 23. X.	11. X.	0·18	
						13.	0·30	—
						16.	0·12	
4. 1426.	O. W.	w.	35	Endocarditis ulcerosa lenta + Bronchopneumoniae.	Langdauerndes Fieber. Tod 16. VIII.	8. VIII.	0·10	-
5. 2106.	M. H.	w.	68	Unklares Fieber. Später Zeichen für Bronchopneumonien und Empyema pleurae.	Unregelmäßiges Fieber. oft hoch.	27. XI.	0·06	
						29.	Spuren	-
						4. XII.	Spuren	-
						5.	Spuren	
						7.	0·10	-
6. 2029.	P. S.	m.	59	Peritonitis tbc. + Tbc. pulm. + Gangraena pulm.	Stark beeinflußtes Allgemeinbefinden. Hohes Fieber. 0 Alb. Tod 19. XI.	15. XI.	0·16	
7. 1508.	A. J	w.	24	Lymphogranulomatosis + Pleuritis exs. sin. + Tbc. pulm.	Langdauerndes hohes Fieber. Schlechter Allgemeinzustand. Leichte Anämie.	9. X.	0·10	
						10.	0·08	
8. 1728.	K. H.	w.	18	Lymphogranulomatosis + Tbc. pulm.	Subfebril. Hb. 50. R. 2·7. 0 Alb. Wenig beeinflußtes Allgemeinbefinden.	9.	0·16	
						10.	0·10	
						13.	0·33	
9. 748.	M. D.	w.	24	Colitis chronica.	Stark beeinflußtes Allgemeinbefinden. Leichte Anämie.	4. VI.	0·18	
10. 1912.	A. N.	w.	26	Colitis ulcerosa.	Schwere Diarrhöen. Allgemeinbefinden einigermaßen zufriedenstellend.	4. XI.	0·03	
						5.	Spuren	
						7.	Spuren	-

						27.	0·17	
12. 1559.	I. A.	w.	14	Epilepsia	Status epilepticus 28. VIII. 28.—29. Hungern. 30. VIII. bis 4. IX. Fett + Gemüse + 200 g Sahne.	29. VIII.	0·08	
						31.	0·03+	—
						1. IX.	0·04	
						2.	0·02+	
						3.	0·04	—
						4.	0·04	
						5.	0·05	
						6.	0·06	—
						7.	0·06	
						8.	0·18	
13. 2071.	S. G.	w.	27	Epilepsia.	Allgemeinbefinden gut.	22. XI.	0·12	
						25.	0·20	
						26.	0·17	
14. 1930k.	E. K.	w.	22	Tetania parathyreopriva latenta postop.	Thyreoektomia subtotalis 13.IV. 1930. 1929. Tetaniesymptome unmittelbar darauf.	30. V.	0·05	—
						2. VI.	0·11	
						3.	0·10	
						4.	0·07	
						5.	0·13	
						6.	0·13	
						9.	0·06	
						13.	0·25	
						15.	0·32	
						16.	0·23	—
15. 1817.	P. P.	m.	28	Tabes dorsalis.	Keinen plausiblen Grund für abnorm niedrige Zitronensäureausscheidung.	30. IX.	0·07	5·64
						1. X.	0·07	5·71
						2.	0·05	5·76
16. 1951.	I. P.	w.	36	Vit. org. cord.	Nicht incomp. 0 Alb.	1. XI.	0·16	
						5.	Spuren	—
						7.	0·10	
						12.	>0·20	
17. 1394.	K. P.	w.	64	Pyelitis acuta	Subfebrile Temp. Spur. Albumin. Reichlich weiße Blutkörperchen im Sediment.	26. VII.	0·09	—
						27.	0·05	—
						28.	0·17	—

In dieser Tabelle (S. 126 u. 127) sind jene Fälle zusammengestellt, die ohne den früher besprochenen Krankheitsgruppen zu gehören, doch eine niedrige Zitronensäureausscheidung aufweisen. Unter diesen kann die Ursache hierfür in den Fällen von Septikämie (1, 2) und Endokarditis (3, 4) vielleicht in einer Nierenbeeinflussung gesucht werden, möglicherweise auch in den Fällen von durch andere Infektionen stark beeinflußtem Allgemeinbefinden (5, 6, 7, 8, 9, 10). In sämtlichen diesen Fällen existiert ja auch die Möglichkeit, daß eine Störung des Säure Basen-Gleichgewichtes nach der sauren Seite eine beitragende Rolle gespielt hat. Derartige Störungen sind nämlich bei ähnlichen Krankheiten beschrieben worden. Der Fall von Cancer ventriculi (11) ist schon früher erwähnt. Maligne Tumoren im übrigen haben keine abnorm niedrige Zitronensäureausscheidung gezeigt.

Daß Störungen im Säure-Basen-Gleichgewicht bei Epilepsie vorkommen, ist u. a. von Jarlöv (1919), Bisgaard & Noervig (1920) und Bigwood (1925) konstatiert worden. Beim Anfall werden saure Produkte gebildet (was man auf eine Milchsäurebildung zurückführen zu können glaubt). Der auf diese Weise entstandene Überschuß ist indessen im Blute schon nach 1 Stunde neutralisiert (Jarlöv). Trotzdem ist es wohl möglich, daß im Falle Nr. 12 mit Status epilepticus am Tage der Aufnahme ein während des Anfalles entstandener Überschuß an sauren Substanzen nebst der bei der Kohlehydratkarenz entstehenden Azidosis die Ursache der niedrigen Zitronensäureausscheidung sein kann. Noch ein Fall von Epilepsie zeigte verminderte Zitronensäurewerte im Harn, aber vier andere Fälle waren in dieser Hinsicht normal. Mit Kenntnis der Schwankungen im Verlauf der Epilepsien im allgemeinen, und ihrer Säure-Basen-Verhältnisse insbesondere, mag diese Erscheinung mit der Auffassung der Bedeutung des Säureüberschusses für die verminderte Zitronensäureausscheidung vereinbar sein.

Der Fall mit Tetanie (14) zeigte wiederholte, deutlich zu niedrige Werte während der Periode vom 30. V. bis 9. VI. Während dieser Zeit hatte die Patientin einige epileptiforme Anfälle, die indessen als durch ihre Tetanie verursacht gedeutet wurden. Sie verschwanden nach Behandlung mit einem Parathyreoideapräparat, Ca und Br. Das für die Epilepsien Gesagte kann auch auf diesen Fall Bezug haben. Die Patientin hatte die ganze Zeit stark erniedrigte Ca-Werte im Blut: 5·8 bis 6·1 mg-Proz. In bezug auf den Zusammenhang mit der Ca-Ausscheidung in diesem Fall wird auf die Tabelle Kap. VI A verwiesen.

In den Fällen 15 und 16 der Tabelle kann eine Erklärung für den niedrigen Zitronensäuregehalt nicht gegeben werden. Andere Fälle von Tabes und Vitium haben in dieser Hinsicht normale Verhältnisse aufgewiesen.

Daß bei Pyelitis (Nr. 17) und andere Harnwegsinfektionen eine von Bakterien bewirkte Zerstörung der Zitronensäure niedrige Werte verursachen kann, ist ganz wahrscheinlich.

Zusammenfassung der pathologischen Zitronensäurewerte.

Von den beiden möglichen Veränderungen betreffs der Zitronensäureausscheidung im Verhältnis zum Normalwert, 0·20 bis 1·0 g per Tag, ist es nur die Verminderung, die man bei Krankheitszuständen regelmäßiger antrifft. In der Mehrzahl dieser Krankheiten kann man in einer Verschiebung des Säure-Basen-Gleichgewichtes nach der sauren Seite hin das verursachende Moment erblicken. Dies dürfte mit Sicherheit beim Coma diabeticum der Fall sein. Bei urämischen Zuständen ist gewiß auch eine derartige Gleichgewichtsstörung in genügend hohem Grade vorhanden, um eine verminderte Zitronensäureausscheidung herbeizuführen, aber hierbei spielt vielleicht auch ein auf den Nierenschaden direkt beruhendes vermindertes Ausscheidungsvermögen eine Rolle. Auch bei Pneumonie, ernsten Anämien, sowie Epilepsie mag eine derartige Störung im Säure-Basen-Gleichgewicht Ursachsbedeutung haben. Die einzige Krankheitsgruppe, die bei diesen Untersuchungen regelmäßiger durch niedrige Zitronensäureausscheidung charakterisiert ist, und bei der Störungen im Säure Basen-Gleichgewicht oder beträchtliche Nierenschäden nicht registriert worden sind, ist hämorrhagische Diathese ohne hervortretende Anämie. In dieser gibt es sowohl Fälle mit Thrombopenie sowie mit normaler Thrombozytenanzahl. Die Anzahl der Fälle in dieser Gruppe ist jedoch noch zu klein. Diese Untersuchung stellt eine Registrierung der Verhältnisse in einem gemischten klinischen Material während einer begrenzten Zeit vor. Durch fortgesetzte Untersuchungen von einer größeren Anzahl Fälle und eine gleichzeitige Registrierung mehrerer der säure-basenregulierenden Faktoren innerhalb jeder Krankheitsgruppe dürfte ein tieferer Einblick in die pathologische Physiologie der Zitronensäureausscheidung gewonnen werden können.

Zusammenfassung.

1. Die in Pflanzenteilen, besonders in Früchten und Beeren, ziemlich allgemein vorkommende Zitronensäure ist früher in Milch, Harn, Zerebrospinalflüssigkeit, Kammerwasser, Sperma, Blutserum und Amnionflüssigkeit beim Menschen nachgewiesen worden. Unter den früheren Analysenmethoden gibt es aber keine einfache und sichere, die sich für Harnanalysen eignet.

2. Bei der Prüfung der von Thunberg ausgestalteten Methode zur Bestimmung der Zitronensäure hinsichtlich ihrer Verwendbarkeit zu Harnanalysen hat sich nichts herausgestellt, was ihre Spezifität zweifelhaft machen kann. Wenn der Zitronensäuregehalt über 0·20 Promille ist, sind die erhaltenen Resultate als quantitativ zuverlässig zu betrachten. Wenn derselbe niedriger liegt, können zu geringe Werte erhalten werden. Der Gefahr der Fehler sowie die Größe derselben ist größer, je niedriger der Zitronensäuregehalt ist.

3. Vergleichende, gleichzeitige Untersuchungen mit Thunbergs Methode und der Pentabromazetonmethode haben in der Regel ziemlich gute Übereinstimmung gezeigt.

4. Kraft über 300 Untersuchungen von über 200 Personen werden die Grenzen der normalen täglichen Zitronensäureausscheidung zu 0·20 und 1·0 g festgestellt. Einzelne Werte, etwas außerhalb dieser Grenzen liegend, können jedoch unter ganz normalen Verhältnissen vorkommen.

5. Die Zufuhr von Zitronensäure per os, auch in so großen Dosen wie bis zu 40 g pro die, bringt keine größere Steigerung der Zitronensäureausscheidung mit sich (die größte erhaltene Steigerung betrug etwa 1 g). Auch eine Abnahme ist nach einer solchen Zufuhr beobachtet worden.

6. Bei Zufuhr von Säuren und anderen sauren Stoffen, sowie bei Azidose, durch Kohlenhydratkarenz hervorgebracht, wird stets eine Abnahme der Zitronensäureausscheidung erhalten.

7. Eine Alkalizufuhr führt dagegen immer eine Steigerung derselben herbei.

8. Die Zitronensäureausscheidung spielt für die Regulierung des Säure Basen-Gleichgewichtes insofern eine besondere Rolle, weil bei Überladung des Organismus mit Alkalien eine vermehrte Ausscheidung von Alkalizitrat stattfindet.

9. Auf Grund der Entstehung einer komplexen, schwach ionisierten, löslichen Kalzium-Zitronensäure-Verbindung wird vermutet, daß Kalzium und Zitronensäure einen gegenseitigen Einfluß aufeinander haben, u. a. inbetreff ihrer Ausscheidung durch die Nieren. Eine mäßige (etwa dreifache) Steigerung des Zitronensäuregehalts des Harns führt indessen nicht

notwendigerweise eine Erhöhung dessen Kalziumgehalts herbei. Und eine Zunahme (Verdoppelung) des Kalziumgehalts des Harns braucht auch nicht eine gesteigerte Zitronensäureausscheidung zu verursachen.

10. Für das Vermögen des Harns, die Kalziumsalze in Lösung zu halten, ist sein normaler Zitronensäuregehalt von erheblicher Bedeutung.

11. Eine verminderte Zitronensäureausscheidung ist ein regelmäßiges Symptom bei Fällen von Diabetes mellitus, die Zeichen von Acidosis aufweisen, sowie bei urämischen Zuständen. Sie ist weiter sehr häufig bei schweren Nierenkrankheiten, auch in nicht urämischem Stadium, und bei Pneumonia cruposa. Außerdem ist dieses Symptom bei Fällen von schweren Anämien, meist bei Anaemia perniciosa, sowie bei vier von den fünf untersuchten Fällen mit härmorrhagischer Diathese (mit und ohne Thrombopenie) beobachtet worden. Bei Incompensatio cordis und bei kachektischen Zuständen kommt es zuweilen vor. Nur in einzelnen Fällen von einigen anderen Krankheiten (u. a. Epilepsie und Tetanie) ist die tägliche Zitronensäureausscheidung niedriger als 0·20 g gefunden worden. Daß bei der Mehrzahl dieser Krankheiten eine Störung des Säure-Basen-Gleichgewichts die Ursache der Abnahme der Zitronensäureausscheidung ist, in derselben Weise, wie durch meine Versuche gezeigt worden ist, dürfte sicher sein.

Literatur.

Ahlgren, G., Zur Kenntnis der tierischen Gewebsoxydationen. *Skand. Arch. f. Physiol.* Supplementband 1925.

Amberg, S. und Mc Clure, W. B., The occurence of citric acid in urine. *Am. journ. of physiol.* 1917. Vol. XLIV. p. 453.

Derselbe und Maver, M. E., Isolation of citric acid from normal urine *Journ. of biol. chem.* 1921. Vol. XLVI. p. xv.

Arthus, M. und Pagés, C., Théorie chimique de la coagulation du sang. *Compt. rend. des séances de l'acad. des sciences.* 1891. T. CXII. p. 241.

Ashby, W., Blood volume VI. The relationship between blood volume, total corpuscle content and alkaline reserve in cases of pernicions anemia. *Arch. of internal med.* 1925. Vol. XXXVI. p. 24.

Auerbach, Fr. und Smolezyk, E., Zur Theorie und Praxis der elektrometrischen Säuretitration. *Zeitschr. f. physikal. Chemie.* 1924. Bd. CX. S. 65.

Bancroft, F. W., On the relative efficiency of the various methods of administering saline purgatives. *Journ. of biol. chem.* 1907. Vol. III. p. 191.

Barrach, A. L., Means, J. H. und Woodwell, M. N., The hydrogen ion. concentration and bicarbonate level of the blood in pneumonia. *Ibidem.* 1922. Vol. L. p. 413.

Batteli, F. und Stern, L., Die Oxydation der Zitronen-, Apfel- und Fumarsäure durch Tiergewebe. *Biochem. Zeitschr.* 1911. Bd. XXXI. S. 478.

Beau, M., Quantitative Bestimmung der Zitronensäure in der Milch. *Rec. génér. du lait.* 1904. T. III. p. 385. — Ref. in *Malys Jahresb. ü. d. Fortschr. d. Tier-Chemie.* 1904. Bd. XXXIV. S. 281.

Becker, G. und Tötterman, G., Die CO_2-Kapazität des Blutes bei perniziöser Anämie und bei Bothriozephalusträgern. *Act. soc. medic. Fennic. Duodecim.* 1926. Vol. VII. p. 579.

Beilstein, Prager und Jacobsen, *Handbuch der organischen Chemie.* 1921. 4. Aufl., Bd 3. S. 556.

Benni, B., Der Zitronensäuregehalt im Liquor cerebrospinalis. *Biochem. Zeitschr.* 1930. Bd. CCXXI. S. 270.

Derselbe, Scherstén, B. und Östberg, O., Der Zitronensäuregehalt im Blutserum des Menschen. *Ebenda.* 1930. Bd. CCXXIII. S. 443.

Bernhard, A. und Beaver, J. J., The electrodialysis of human blood serum. *Journ. of biol. chem.* 1926. Vol. LIX. p. 113.

Bernhardt, H., Zur Frage des Mineralstoffwechsels bei der Azidose. Zugleich ein Beitrag zur Therapie rachitischer Knochenverkrümmungen. *Zeitschr. f. klin. Med.* 1924. Bd. C. S. 735.

Bernhauer, K., Die Säurebildung durch Aspergillus niger. II. Der Bildung der Glukonsäure. *Biochem. Zeitschr.* 1926. Bd. CLXXII. S. 313.

Derselbe, Zum Chemismus der Zitronensäurebildung durch Pilze. I. Die Säurebildung aus verschiedenen Kohlenstoffverbindungen. *Ebenda.* 1928 Bd. CXCVII. S. 307 A.

Derselbe, Zum Chemismus der Zitronensäurebildung durch Pilze. II. Die Zitronensäurebildung aus Gluconsäure. *Ebenda.* 1928. Bd. CXCVII. S. 327 B.

Derselbe und Schön, K., Zum Chemismus der Zitronensäurebildung durch Pilze. III. Über die Hypothesen der Zitronensäurebildung und das Auftreten von Azetaldehyd in den Pilzenkulturen. *Ebenda.* 1928. Bd. CCII. S. 164.

Bernheim, F., The specificity of the dehydrases. The separation of the citric acid dehydrase from liver and of the lactic acid dehydrase from yeast *Biochem. journ.* 1928. Vol. XXII. p. 1178.

Bickel und Kaufmann-Cosla, Zur pathologischen Physiologie und Klinik der dysoxidativen Carbonurie. *Virchows Arch. f. pathol. Physiol. u. Anatomie.* 1926. Bd. CCLIX. S. 186.

Bigwood, E. J., L'équilibre acide-base du sang à l'état normal et chez le malade. *Ann. de méd.* 1925. T. XVII. p. 89.

Bisgaard, A. und Noerwig, J., Weitere Untersuchungen über die Neutralitätsregulation bei genuiner Epelepsie. *Hospitalstidende.* 1920. Bd. LXIII S. 49.

Blatherwick, N. R. und Long, M. Louise, Studies of urinary acidity. I. Some effects of drinking large amounts of orange juice and sour milk. *Journ. of biol. chem.* 1922. Vol. LIII. p. 103.

Bleyler, B. und Schwaibold, J., Beiträge zur Kenntnis der Zitronensäure. Bestimmungsmethoden für Zitronensäure mit Berücksichtigungen der Bedürfnisse der Lebensmittelchemie und der Biochemie und des Zitronensäuregehaltes der Milch. *Milchwirtschaftliche Forschungen.* 1925. Bd. II. S. 260.

Blum, L., Delaville, M. und Van Caulaert, L'acidose des Brightiques. *Compt. rend. d. la soc. de biol.* 1925. T. XCIII. p. 698.

Brandenburg, K., Über die Alkaleszenz des Blutes. *Zeitschr. f. klin. Med.* 1899. Bd. XXXVI. S. 267.

Brull, L., Contribution à l'étude de l'état physico-chimique des constituants mineraux et du glucos plasmatiques. *Arch. internat. de physiol.* 1930. T. XXXII. p. 138.

Bulgar, H. A., Peters, J. P., Eisenman, Anna J. und Lee, C., Total acid-base equilibrium of plasma in health and disease. VII. Factors causing acidosis in chronic nephritis. A preliminary report. *Journ. of clin. invest.* 1926. Vol. II. p. 213.

Butkewitsch, W., Über die Bildung der Zitronensäure in den Kulturen von Aspergillus niger und Penicillium glaucum auf Zucker. *Biochem. Zeitschr.* 1923. Bd. CXXXVI. S. 224.

Derselbe, Über die „Zitronensäuregärung". *Ebenda.* 1923. Bd. CXLII. S. 195.

Cameron, A. T. und Moorhouse, V. H. K., The tetany of parathyreoid deficiency and the calcium of the blood and cerebro-spinal fluid. *Journ. of biol. chem.* 1925. Vol. LXIII. p. 687.

Clark, A. J., Percival, G. H. und Stewart, C. P., Action of calcium ions on the frog's heart. *Journ. of physiol.* 1928. Vol. LXVI. p. 346.

Clark, G. W., The effects of citrates, malates and phosphates upon the calcium balance and the calciumcontent of the blood. *Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med.* 1921., Vol. XVIII. p. 165. — Ref. in *Ber. ü. d. ges. Physiol.* 1922. Bd. XI. S. 403.

Clarke, B. E. und Hansmann, G. H., Citric acid metabolism. The effect of citric acid and citrates on quantitative determination of acetone body content by the van Slyke method. *Arch. of path.* 1928. Vol. VI. p. 881. — Ref. in *Ber. ü. d. ges. Physiol.* 1929. Bd. L. S. 68.

Collazo, J.-A. und Morelli, E., Recherches expérimentales sur la physiologie de l'acide lactique du sang. *Journ. de physiol. et de pathol. gén.* 1926. T. XXIV p. 76.

Davies, H. W., Haldane, J. B. S. und Kennaway, E. L., Experiments on the regulation of the blood's alcalinity. I. *Journ. of physiol.* 1920. Vol. LIV. p. 40.

Davies, H. W., Haldane, J. B. S. und Peskett, G. L., The excretion of chlorides and bicarbonates by the human kidney. *Journ. of physiol.* 1921. Vol. LVI. p. 269.

Denigès, G., Nachweis der Zitronensäure. Originalart. in *Revue chim. analyt. appl.* [7]. 6, 110. *Zeitschr. f. analyt. Chem.* 1899. Bd. XXXVIII. S. 718.

Derselbe, Über die Oxydation der Zitronensäure und der Apfelsäure mit Permanganat. Originalart. in *Compt. rend.* 1901. T. CXXX. p. 32. — *Zeitschr. f. analyt. Chem.* 1901. Bd. XL. S. 121.

Dieudonné, Über das Verhalten der Zitronensäure in der Milch beim Erhitzen. *Sitzungsber. d. physik.-mediz. Gesellsch. zu Würzburg.* 1903. Nr. 99. — Ref. in *Malys Jahresber. ü. d. Fortschr. d. Tier-Chemie.* 1903. Bd. XXXIII. S. 313.

Duclaux, M., Sur les phosphates du lait. *Ann. de l'inst. Pasteur.* 1893. T. VII. p. 2.

Fanconi, G., Der intestinale Infantilismus und ähnliche Formen der chronischen Verdauungsstörung. Ihre Behandlung mit Früchten und Gemüsen. *Abhandl. aus der Kinderheilk.* 1928. Bd. XXI.

Fasold, H., Zur Kenntnis der Zitronensäure im Harn, zugleich ein Beitrag über ihre Herkunft. *Zeitschr. f. Biol.* 1930. Bd. XC. S. 192A.

Derselbe, Beiträge zum Säure-Basen-Haushalt. Über die Bedeutung der organischen Säuren im Urin bei vegetabilischer und animalischer Ernährung. *Zeitschr. f. Kinderheilk.* 1930. Bd. XLIX. S. 709 B.

Fitz, R., Alsberg, C. L. und Henderson, L. J., Concerning the excretion of phosphoric acid during experimental acidosis. *Am. journ. of physiol.* 1907. Vol. XVIII. p. 113.

Fitz, R. und van Slyke, D. D., The relationship between alkaline reserve and acid excretion. *Journ. of biol. chem.* 1917. Vol. XXX. p. 389.

Franzen, H. und Helwert, F., Über die chemischen Bestandteile grüner Pflanzen. XXIV. Kritisches über das Vorkommen der Zitronensäure in den Pflanzen. *Biochem. Zeitschr.* 1923. Bd. CXXXV. S. 384 A.

Dieselben, Über die chemischen Bestandteile grüner Pflanzen. XXV. Über die Säuren der Äpfel (Pirus malus). *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1923. Bd. CXXVII. S. 14 B.

Franzen und Kaiser, H., Über die chemischen Bestandteile grüner Pflanzen. XXVIII. Über die durch Bleiacetat fällbaren Säuren der Tamarinden (Tamarindus indica). *Ebenda.* 1923. Bd. CXXIX. S. 80.

Fölling, A., On the mechanism of the ammonium chloride acidosis. *Acta med. scand.* 1929. Vol. LXXI. p. 221.

Galanos, S., Über den Zitronensäuregehalt der griechischen Moste. *Zeitschr. f. Unters. d. Lebensmittel.* 1926. Bd. LI. S. 217.

Gamble, J. L. und Ross, G. S., Studies of Tetany. II. The effect of ingestion of hydrochloric acid producing substances on the acid-base metabolism of an infant and the probable manner of their action in the treatment of tetany. *Am. journ. of dis. of childr.* 1923. Vol. XXV. p. 470.

Genell, S., Über das Vorkommen von Zitronensäure im Fruchtwasser. *Biochem. Zeitschr.* in Druck.

Gerhardt, D. und Schlesinger, W., Über die Kalk- und Magnesiaausscheidung beim Diabetes mellitus und ihre Beziehung zur Ausscheidung abnormer Säuren (Azidose). *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1899. Bd. XLII. S. 83.

Gettler, A. O. und Lindeman, E., Blood chemistry of pernicious anemia. *Arch. of internal med.* 1920. Vol. XXVI. p. 453.

Givens, M. H. und Mendel, L. B., Studies in calcium and magnesium metabolism. I. The effects of base and acid. *Journ. of biol. chem.* 1917. Vol. XXXI. p. 421.

Goia, I. und Petri, I., Contribution à l'étude de l'action hémostatique du citrate de soudium. *Paris Medical.* 1927. T. LXV. p. 137.

Goiffon, R., Le dosage global des acides organiques de l'urine. Leur rapport avec l'alimentation azotée et avec la cétonurie. *Arch. des mal. de l'appar. digestif.* 1923. T. XIII. p. 869.

Derselbe, L'agumentation de l'elimination des acides organiques urinaires. *Presse medicale* 1925. p. 1316.

Derselbe, Les acides organiques urinaires. *Ann. de med.* 1928. T. XXIII. p. 136.

Derselbe und Nepveux, F., La titration des acides organiques dans l'urine. *Compt. rend. de la soc. de biol.* 1922. T. LXXXVI. p. 1132.

Greenwald, I., The supposed relation between alkalosis and tetany. *Journ. of biol. chem.* 1922., Vol. LIV. p. 285.

Derselbe, The effect of the administration of calcium salts and of sodium

phosphate upon the calcium and phosphorus metabolism of thyroparathyroidectomized dogs, with a consideration of the nature of the calcium compounds of blood and their relation to the patogenesis of tetany. *Ibidem.* 1926. Vol. LXVII. p. 1.

Gros, O., Über das Wesen der Oxalsäure-Wirkung auf das Froschherz. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1913. Bd. LXXI. p. 395.

Grönwall, H., Über das Vorkommen der Zitronensäure im Kammerwasser. *Biochem. Zeitschr.* 1930. Bd. CCXX. S. 82.

Haldane, J. B. S., Experiments on the regulation of the blood's alkalinity. *Journ. of physiol.* 1921. Vol. LV. p. 265.

Hammarsten, Greta, Om calciumoxalat och dess löslighet vid närvaro av oorganiska salter med speciell hänsyn till uppkomsten av oxaluri. *Meddelelser fra Carlsbergs laboratoriet.* 1929. Vol. XVII. p. 11.

Hartman, B. G. und Hillig, F., Application of the Stahre reaction to the accurate determination of citric acid. *Ass. of offic. agricult chemists.* 1927. Vol. X. p. 264.

Dieselben, Determination of citric acid in fruits and fruit products. *Ass. of offic. agricult. chemists.* 1928. Vol. XI. p. 257.

Hasselbalch, K. A., Neutralitätsregulation und Reizbarkeit des Atemzentrums. *Biochem. Zeitschr.* 1912. Bd. XLVI. S. 403.

Hastings, A. B., Murray, C. D. und Sendroy, J., Studies of the solubility of calcium salts. I. The solubility of calcium carbonate in salt solutions and biological fluids. *Journ. of biol. chem.* 1926—1927. Vol. LXXI. p. 723.

Hastings, A. B. und van Slyke, D. D., The determination of the three dissociation constants of citric acid. *Journ of biol. chem.* 1922. Vol. LIII. p. 269.

Heiduschka, A. u. Pyriki, C., Beitrag zur Kenntnis des Zitronensäuregehaltes von Traubenmosten und Traubenweinen. *Zeitschr. f. Unters. der Lebensmittel.* 1927. Bd. LIV. S. 466.

Dieselben, Über den Zitronensäuregehalt der Trauben in verschiedenen Reifestadien und über das Bestimmungsverfahren dieser Säure. *Ebenda.* 1929. Bd. LVIII. S. 378.

Henderson, L. J. und Palmer, W. W., On the several factors of acid excretion. *Journ. of biol. chem.* 1914. Vol. XVII. p. 305.

Dieselben, On the several factors of acid excretion in nepritis. *Ibidem.* 1915. Vol. XXI. p. 37.

Henderson und Spiro, K., Zur Kenntnis des Ionengleichgewichts im Organismus. I. Über Basen- und Säuregleichgewicht im Harn. *Biochem. Zeitschr.* 1909. Bd. XV. S. 105.

Henkel, T., Über Zitronensäuregehalt der Kuhmilch. *Chem. Centr.-Blatt.* 1888. S. 1561.

Derselbe, Zitronensäure als normaler Bestandteil der Kuhmilch. *Landw. Vers.-Stat.* 1891. Bd. XXXIX. S. 143. — Ref. in *Malys Jahresb. ü. d. Fortschr. d. Tierchemie.* 1891. Bd. XXI. S. 129.

Hooker, D. R., Wilson, D. W. und Counett, H., The perfusion of the mammalian medulla: the effect of carbon dioxide and other substances on the respiratory and cardiovascular centers. *Am. journ. of physiol.* 1917. Vol. XLIII. p. 351.

Hottinger, A., Studien über Säure. — Basenhaushalt im kindlichen Organismus. *Mtschr. f. Kinderheilk.* 1925. Bd. XXX. S. 497.

v. Jacksch, R., Über die Alkaleszenz des Blutes bei Krankheiten. *Zeitschr. f. klin. Med.* 1888. Bd. XIII. S. 350.

Jarlöv, E., Om Syre-Baseligevaekten i det menneskelige Blod, saerlig ved Sygdomme. *Inaug.-Diss.* 1919. Kopenhagen.

Jerlow, E., Om citronsyra i kvinnomjölk. *Sv. läkartidn.* 1929. Vol. XXVI. p. 785.

Joannides, M., Changes in respiration, in the circulation and in the coagulation time of blood produced by sodium citrate injections. *Arch. of internal med.* 1926. Vol. XXXVII. p. 248.

Derselbe und Cameron, A. L., Citrated blood transfusion, an experimental study of the toxicity of sodium citrate in exsanguinated dogs. *J. A. M. A.* 1924. Vol. LXXXII. p. 1187.

Katz, J. R., Weitere Untersuchungen über den Antagonismus zwischen Zitrat und Kalziumsalz bei biochemischen Prozessen, untersucht mit Hilfe substituierter Zitrate. *Verslagen d. Afdeelung Natuurkunde königl. Akadem. d. Wiss., Amsterdam.* 1923. Bd. XXXII. S. 568. — Ref. in *Ber. ü. d. ges. Physiol.* 1924. Bd. XXII. S. 168.

Kickinger, H., Der Abbau von Zitronensäure der Kuhmilch durch einige Bakterien. *Biochem. Zeitschr.* 1922. Bd. CXXXII. S. 210.

Kieferle, F., Schwaibold, J. und Hackmann, Ch., Der Gehalt der Kuhmilch an Zitronensäure und dessen Beziehungen zur Chlorzuckerzahl als Kriterium für normale bzw. anormale Milch. *Zeitschr. f. physiol. Chemie.* 1925. Bd. CXLV. S. 18 und *Milchwirtschaftliche Forschungen.* 1925. Bd. II.

Klein, G. und Werner, O., Der mikro- und histochemische Nachweis von freier und gebundener Oxalsäure, Bernsteinsäure, Apfelsäure, Weinsäure und Zitronensäure. *Zeitschr. f. physiol. Chemie.* 1925. Bd. CXLIII. S. 141.

Klinke, K., Zustandeform des Serumkalziums und ihre pathologische Bedeutung. *Klin. Wo.* 1927. Bd. VI. S. 791.

Derselbe, Zur Pathogenese der Tetanie. *D. med. W.* 1928. Bd. LIV. S. 823**A.**

Derselbe, Neuere Ergebnisse der Kalziumforschung. *Ergebn. d. Physiol.* 1928. Bd. XXVI. S. 235**B.**

Kostytschew, S. und Tschesnokov, W., Bildung von Zitronensäure und Oxalsäure durch Aspergillus niger. *Zeitschr. f. wiss. Biol.* Abt. E. *Planta Arch. f. wiss. Botan.* 1927. Bd. IV. S. 181. — Ref. in *Ber. ü. d. ges. Physiol.* 1928. Bd. XLIII. S. 473.

Kraus, Fr., in *v. Noordens Handbuch der Pathologie des Stoffwechsels I.* 1906. S. 607.

v. Krüger, F., Lehrbuch der Harnanalyse von Ivar Bang. Verlag J. F. Bergmann, München 1926.

Kunz, R., Nachweis von Zitronensäure. *Zeitschr. f. analyt. Chem.* 1915. Bd. LIV. S. 126.

Derselbe, Zitronensäurebestimmung in Milch. *Ebenda.* 1920. Bd. LIX. S. 381.

Labbé, M., Bith, H. und Nepveux, F., L'élimination des acides organiques, dans l'urine des diabetiques acidosiques. *Compt. rend. de la soc. de biol.* 1922. T. LXXXVII. p. 446.

Leake, C. D., The occurence of citric acid in sweat. *Am. journ. of physiol.* 1922—1923. Vol. LXIII. p. 540.

Levi, A., Influenza del succo di limone nell'organismo. I. Azione nell'urina e nel sangue. *Boll. d. soc. med.-chir., Modena.* 1928. Vol. XXIX. p. 29. Ref. in Ber. ü. d. ges. Phys.

Ljungdahl, M., Une méthode de détermination de l'ammoniaque de l'urine. *Compt. rend. de la soc. de biol.* 1922. Vol. LXXXVII. p. 1414.

Ljunggren, G. und Elmqvist, R., En enkel audionrörspotentiometer för pH-bestämningar. *Svensk. kem. tidskrift.* 1929. Vol. XLI. p. 213.

Lunge-Berl, Chem. techn. Unters.-Meth. Aufl. 7. 1922. S. 1125.

Löffler, W., Die Darmwand als Mitregulator der Wasserstoff-ionenkonzentrationen im Organismus. *Klin. Wo.* 1926. Bd. V. S. 179.

Mc Clure, W. D., The adaptation of the pentabromacetone method to the quantitative determination of citric acid in the urine. *Journ. of biol. chem.* 1922. Vol. LIII. p. 357.

Derselbe und Mc Donald, H., The adaptation of the pentabromacetone method to the quantitative determination of citric acid in urine. *Ibidem.* 1921. Vol. XLVI. p. XVII.

Derselbe und Sauer, L. W., Comparison of pentabromacetone method and Salant and Wise's method for citric acid determination in urine. *Am. journ. of physiol.* 1922. Vol. LXII. p. 140.

Mc Laughlin, Laura und Blunt, Katharine, Urinary excretion of organic acid and its variation with diet. *Journ. of biol. chem.* 1923—1924. Vol. LVIII. p. 267.

Macleod, J. J. R. und Hoover, D. H., Studies in experimental glycosuria. XII. Lactic acid production of the blood following the injection of alkaline solutions of dextrose or of alkaline solutions alone. *Am. journ. of physiol.* 1917. Vol. XLII. p. 460.

Derselbe und Knapp, J. H., The influence of alkali administration on the urinary excretion of lactic acid and the possible significance of the latter in maintaining neutrality in the body. *Ibidem.* 1918—1919. Vol. XLVII. p. 189.

Mac Nider, W. de B., A study of renal function and the associated disturbance in the acid-base equilibrium of the blood in certain experimental and naturally acquired nephropathies. *Arch. of internal med.* 1920. Vol. XXVI. p. 1.

Magnus-Alsleben, E., Zur Kenntnis der Säuren im Harn. *Zeitschr. f. klin. Med.* 1911. Bd. LXXIII. S. 428.

Mainzer, F., Die Bedeutung der Niere für das Säure-Basen-Gleichgewicht des Organismus. *Die Naturwissenschaften.* 1929. Nr. XVII. S. 196**A**.

Derselbe, Untersuchungen über die Bikarbonatausscheidung im Harn. III. Theoretische und methodische Gesichtspunkte. IV. Die Bikarbonatausscheidung des Gesunden. *Zeitschr. f. klin. Med.* 1929. Bd. CXI. S. 1 u. 9**B**.

Derselbe und Joffe, Zur Analyse des Säurebasengleichgewichts im Harn. *Biochem. Zeitschr.* 1928. Bd. CCIII. S. 50.

Derselbe und Rachmilewitz, M., Untersuchungen über die Bicarbonatausscheidung im Harn. VI. Die maximale Cl- und Bikarbonatkonzentration im Harn des Menschen. *Zeitschr. f. klin. Med.* 1930. Bd. CXII. S. 175.

Marriott, W., Mc Kim und Howland, J., The influence of acid phosphate on the elimination of ammonia in the urine. *Arch. of internal med.* 1918. Vol. XXII. p. 477.

Marshall, E. K. jr., Effect of loss of carbondioxide on hydrogen ion concentration of urine. *Journ. of biol. chem.* 1922. Vol. LI. p. 3.

Maxwell, S. S., Chemical stimulation of the motor areas of the cerebral hemispheres. *Ibidem.* 1906. Vol. II. p. 183.

Means, J. H., Bock, A. V. und Woodwell, M. N., Studies of the acid-base equilibrium in disease from the point of view of blood gases. *Journ. of exp. med.* 1921. Vol. XXXIII. p. 201.

Meyer, J., Om Urinvejs Konkrementernes opløslighed. *Inaug.-Diss.* 1927. Kiøbenhavn.

Morichau-Beauchant, R., Traitement des artérites oblitérantes et des spasmes vasculaires par le citrate de soude. *Bull. et mem. de la soc. med. des hop. de Paris.* 1922. T. XLVI. p. 404.

Nash, T. P. und Benedict, S. R., The ammonia content of the blood and its bearing on the mechanism of acid neutralisation in the animal organism. *Journ. of biol. chem.* 1921. Vol. XLVIII. p. 463.

Neuhof, H. und Hirshfeld, S., The intramuscular administration of sodium citrate, a new method for the control of bleeding. *Ann. of surgery.* 1922. Vol. LXXVI. p. 1.

Nitzescu, I.-I. und Georgescu, I. D., La teneur en acide citrique de quelque liquides animaux (liquide céphalo-rachidien, humeur aqueuse, liquide folliculaire, liquide amniotique). *Compt. rend. des séances de l'acad. des sciences* 1930. T. CXC. p. 1325.

Normet, Sur la mechanisme de l'action biologique du citrate de soude en injection intraveineuse. *Bull. de l'acad. de med.* 1924. T. XCII. p. 1306.

Obermaier, Über die Abnahme des Zitronensäuregehaltes der Milch beim Kochen. *Arch. f. Hyg.* Bd. L. S. 52. — Ref. in *Malys Jahresber. ü. d. Fortschr. d. Tier-Chemie.* 1904. Bd. XXXIV. S. 282.

Odaira, The change in the reserve alkali and oxygen dissociation curve of blood in clinical and experimental anaemias. *Tohuku journ. of exp. med.* 1923. Vol. IV. p. 243.

Odin, M., Studien über die Säureproduktion bei Diabetes mellitus. *Acta med. scand.* 1927. Supplement. XVII.

Ohta, K., Über das Verhalten der Apfelsäure im Tierkörper. *Biochem. Zeitschr.* 1912. Bd. XLIV. S. 481.

Östberg, O., Der Citronensäuregehalt des normalen Menschenharns. *Ebenda.* 1929. Bd. CCVIII. S. 352.

Derselbe, Der Citronensäuregehalt des Harns bei Acidose und Alkalose. *Ebenda.* 1930. Bd. CCXXVI. S. 162.

Palmer, W. W., Acidosis and acid excretion in pneumonia. *Journ. of exp. med.* 1917. Vol. XXVI. p. 495.

Derselbe und Henderson, L. J., On the retention of alkali in nephritis. *Journ. of biol. chem.* 1915. Vol. XXI. p. 57.

Panisset, L. und Verge, J., La toxicité du citrate de soude chez les animaux. *Compt. rend. de la soc. de biol.* 1922. T. LXXXVII. p. 224.

Pickering, J. B. und Hewitt, J. A., The action of oxalates and of citrates on circulating blood. *Am. journ. of physiol.* 1925. Vol. LIX. p. 455.

Plücker, W., Allgemeine Methode zur Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. *Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden.* 1930. Abt. IV. Teil 14. Heft 1. Lieferung 328. S. 172.

Proverman, R. u. Brull, M. L., Contribution à l'étude du metabolism calcique Citrates et exrétion urinaire du calcium. *Bull. de la soc. de chimie biol.* 1930. T. XII. p. 1151.

Reichard, O., Nachweis und Bestimmung von Citronensäure und die Ergebnisse der an Wein angestellten Untersuchungen. *Zeitschr. f. Unters. d. Lebensmittel.* 1926. Bd. LI. S. 274.

Robertson, T. B. und Burnett, T. C., On the action of sodium citrate upon mammalia, with especial reference to acquired tolerance and to its action upon the cerebellum. *Journ. of pharm.* 1912. Vol. III. p. 635.

Rosenthal, N. und Baehr, G., Paradoxal shortening of the coagulation time of the blood after intravenous administration of sodium citrate. *Arch. of internal med.* 1924. Vol. XXXIII. p. 535.

Rosling, E., Untersuchungen über Muskelenzym. *Skand. Arch. f. Physiol.* 1924. Bd. XLV. S. 132.

Sabbatani, L., Calcium et citrate trisodique dans la coagulation du sang. de la lymphe et du lait. *Arch. ital. de biol.* 1901. T. XXXVI. p. 327.

Derselbe, Ca et citrate trisodique dans la coagulation du sang. *Ibidem.* 1901. T. XXXVI. p. 395.

Derselbe, Fonction biologique du calcium. Ier Partie. Action antagoniste entre le citrate trisodique et le calcium. *Ibidem.* 1901. T. XXXVI. p. 416.

Derselbe, Fonction biologique du calcium. IIe Partie. Le calcium dans la coagulation du sang. *Ibidem.* 1903. T. XXXIX. p. 333.

Derselbe, Fonction biologique du calcium. IIIe Partie. Action comparée des réactifs décalcifiants. *Ibidem.* 1905. T. XLIV. p. 361.

Sakai, T., Über die Wirkung einiger Anionen auf den isolierten Froschventrikel. *Zeitschr. f. Biol.* 1914. Bd. LXIV. S. 1.

Salant, W. und Hecht, S., The influence of oxalates, citrates and tartrates on the isolated heart. *Am. journ. of physiol.* 1915. Vol. XXXVI. p. 126.

Derselbe und Kleitmann, N., Studies on the pharmacology of sodium citrate. I. The influence of sodium citrate on respiration and circulation. *Journ. of pharm. and exp. therap.* 1923. Vol. XX. p. 481.

Derselbe und Swansson, A. M., Observations on the action of tartrates, citrates and oxalates. A study in tolerance, cumulation and the effect of diet. *Ibidem.* 1918. Vol. XI. p. 133.

Derselbe und Wise, L. E., The action of sodium citrate and its decomopsition in the body. *Journ. of biol. chem.* 1916. Vol. XXVIII. p. 27.

Salvador, W., The food value of Philippine Bananas. *Philippine journ. of science.* 1922. Vol. XX. p. 363. – Ref. in *Ber. ü. d. ges. Physiol.* 1923. Bd. XVII. S. 329.

Salvesen, H. A., Variations inthe serumelectrolytes in diseases of renal origin with special refernce to the cause of renal acidosis. *Acta med. scand.* 1928. Vol. LXIX. p. 126.

Derselbe, Om den renale acidose. *Nord. med. tidskr.* 1929. Vol. I. p. 607.

Scheibe, A., Über den Ursprung der Zitronensäure als Bestandteil der Milch. *Landw. Vers.-Stat.* 1891. Bd. XXXIX. S. 153. — Ref. in *Malys Jahresber. ü. d. Fortschr. d. Tierchemie.* 1891. Bd. XXI. S. 130.

Scherstén, B., Über das Vorkommen der Zitronensäure in Geschlechtsdrüsensekreten. *Skand. Arch. f. Physiol.* 1929. Bd. LVIII. S. 90.

Derselbe, Kommt Zitronensäure im Menschenschweiß vor? *Ebenda.* 1930. Bd. LIX. S. 92.

Schetelig, Über die Herstammung und Ausscheidung des Kalks im gesunden und kranken Organismus. *Virchow Arch. f. path. Anat. u. Physiol.* 1880. Bd. LXXXII. S. 437.

Seidell, A., Solubilities of inorganic and organic compounds. *New York, sec. edit.* 1919. p. 200. — *Supplem., New York.* 1928. Vol. II. p. 1141.

Shear, M. J. und Kramer, B., Composition of bone. V. Some properties of calciumcitrate. *Journ. of biol. chem.* 1928. Vol. LXXIX. p. 161.

Shear, M. J., Kramer, B. und Resnikoff, L., Composition of bone VIII. Conductivity titrations of calcium ion with chloride, acetate lactate and citrate ions at 38°. *Ibidem.* 1929. Vol. LXXXIII. p. 721.

Shelling, D. H. und Maslow, H. L., The effect of sodium citrate, acetate and lactate on the ultrafiltrability of serum Ca. *Ibidem.* 1928. Vol. LXXVIII. p. 661.

Shipley, P. G., Kramer, B. und Howland, J., Studies upon calcification in vitro. *Biochem. journ.* 1926. Vol. XX. p. 379.

Soxhlet, Citronensäuregehalt der Kuhmilch. *Chem. Central-Blatt.* 1888. Nr. XIX. S. 1067.

Stahre, L., En citronsyrereaktion. *Nord. farm. tidskr.* 1895. Bd. II. p. 141.

Derselbe, Die Erkennung der Zitronensäure. *Zeitschr. f. analyt. Chemie.* 1897. Bd. XXXVI.

Steel, W. A., Sodium citrate treatment of thrombo-angitis obliterans. *Journ. of the am. med. assoc.* 1921. Vol. LXXVI. p. 429.

Stehle, R. L. und Mc Carty, A. C., The effect of hydrochloric acid ingestion upon the composition of the urine in man. *Journ. of biol. chem.* 1921. Vol. XLVII. p. 315.

Steuart, D. W., The citric acid content of milk powder. *Analyst.* 1924. Vol. XLIX. p. 465.

Stewart, C. P. und Percival, G. H., Studies in calcium metabolism. III. Calcium and the coagulation of blood. *Biochem. journ.* 1928. Vol. XXII. p. 559.

Straub, H., Die Poikilopikrie der Nierenkranken. *Deutsch. Arch. f. klin. Med.* 1923. Bd. CXLII. S. 145.

Derselbe, Störungen der physikalisch-chemischen Atmungsregulation. *Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderh.* 1924. Bd. XXV. S. 1.

Derselbe und Schlayer, C., Die Urämie eine Säurevergiftung. *Münch. med. Wochenschr.* 1912. Nr. LIX. S. 569.

Stuber, B. und Sano, M., Untersuchungen zur Lehre von der Blutgerinnung. VII. Über die Rolle des Kalks bei der Blutgerinnung. *Biochem. Zeitschr.* 1923. Bd. CXXXIV. S. 260.

Derselbe und Lang, Die Physiologie und Pathologie der Blutgerinnung. Urban und Schwarzenberg 1930.

Suppley, G. C. und Bellis, B., Citric acid content of milk and milk product. *Journ. of biol. chem.* 1921. Vol. XLVIII. p. 453.

Thunberg, T., Studien über die Beeinflussung des Gasaustausches des überlebenden Froschmuskels durch verschiedene Stoffe. *Skand. Arch. f. Physiol.* 1911. Bd. XXIV. S. 23 A.

Derselbe, Studien über die Beeinflussung des Gasaustausches des überlebenden Froschmuskels durch verschiedene Stoffe. *Ebenda.* 1911. Bd. XXV. S. 37 B.

Derselbe, Zur Kenntnis der Einwirkung tierischer Gewebe auf Methylenblau. *Ebenda.* 1917. Bd. XXXV. S. 163.

Derselbe, Zur Kenntnis des intermediären Stoffwechsels und der dabei wirksamen Enzyme. *Ebenda.* 1920. Bd. XL. S. 1.

Derselbe, Der Mechanismus der physiologischen Oxydationsprozesse. In *Hammarstens Lehrbuch der physiologischen Chemie.* 11. Aufl. 1926. S. 701.

Derselbe, Acceptormethode, Dehydrasen der Carbonsäuren, Redoxpotentiale. Oppenheimer-Pincussen, *Die Fermente und ihre Wirkungen.* 1928. *Bd. III.* S. 1118.

Derselbe, Über das Vorkommen einer Citrico-Dehydrogenase in Gurkensamen und ihre Verwertung für eine hochempfindliche biologische Farbenreaktion auf Citronensäure. *Biochem. Zeitschr.* 1929. Bd. CCVI. S. 109A.

Derselbe, Über das Vorkommen einer Hexosediphosphorsäure-Dehydrogenase in Pflanzensamen. *Lunds univ. årsskr.*, N. F., avd. 2, Bd. XXV, Nr. 9. — *Kungl. fysiogr. sällsk. handl.* N. F. 1929. Bd. XL. Nr. 9. B.

Derselbe, The hydrogen-activating enzyms of the cells. *The quarterly review of biology.* 1930. Vol. V. p. 318.

Tsai, C. und Hsu, F. Y., The effect of intravenous injection of sodium oxalate and citrate on the concentration of plasma calcium and inorganic phosphorus. *Chinese journ. of physiol.* 1930. Vol. IV. p. 273.

Utheim, Kirsten, Metabolism studies in infants suffering from chronic nutritional disturbances (atrepsia). *Am. journ. of dis. of childr.* 1921. Vol. XXII. p. 329.

Walker, T. K., Subramaniam Vira und Challenger, F., The mechanism of the formation of citric and oxalic acid by Aspergillus niger. *Journ. of the chem. soc., London.* 1927. p. 3044.

van Slyke, D. D., Studies in acidosis. VII. The determination of β-hydroxybutyric acid, acetoacetic acid, and acetone in urine. *Journ. of biol. chem.* 1917. Vol. XXXII. p. 455.

Derselbe, Studies in acidosis. XVII. The normal an abnormal variations in the acid-base balance of the blood. *Ibidem.* 1921. Vol. XLVIII. p. 153.

Derselbe und Cullen, G. E., Studies of acidosis. I. The bicarbonate. concentration of the blood plasma, its significance, and its determination as a measure of acidosis. *Ibidem.* 1917. Vol. XXX. p. 289.

Derselbe und Palmer, W. W., Studies of acidocis. XVI. The titration of organic acids in urine. *Ibidem.* 1920. Vol. XLI. p. 567.

van Slyke, L. L. und Bosworth, A. W., Condition of casein and salts in milk. *Ibidem.* 1915. Vol. XX. p. 135.

Vaudin, M. L., *Le laiterie.* 1897. p. 51. — Ref. in *Jahresb. d. Fortschr. d. Tierchemie.* 1897. Bd. XXVII. S. 260.

Derselbe, Sur l'acid citrique et le phosphate de chaux en dissolution dans le lait. *Ann. de l'inst. Pasteur.* 1894. T. VIII. p. 502 et 856.

v. Wendt, G., Untersuchungen über den Eiweiß- und Salz-Stoffwechsel beim Menschen. *Skand. Arch. f. Physiol.* 1905. Bd. XVII. S. 211.

Westerlund, A., Faktorer, som påverka calciumomsättningen. *Årsskr. för Lantbruks- och mejeriinstitutetet vid Alnarp.* 1929.

v. Vietinghoff-Scheel, E., Zur Giftwirkung des neutralen citronensauren und weinsauren Natriums und über ihren Einfluß auf die Blutgerinnung und die Kaseingerinnung mit Lab. *Arch. de pharmacodynamik.* 1902. Bd. X. S. 145.

Widmark, E. M. P., Studien über die Succinodehydrogenase. *Skand. Arch. f. Physiol.* 1921. Bd. XLI. S. 200.

Wiley, W. J., The dissociation of calcium citrate. *Biochem. journ.* 1930. Vol. XXIV. p. 856.

Vines, H. W. C., The coagulation of the blood. Part I. The role of calcium. *Journ. of physiol.* 1921. Vol. LV. p. 86A.

Derselbe, The coagulation of the blood. Part. II. The clotting complex. *Ibidem.* 1921. Vol. LV. p. 287B.

Winterstein, E., Über einige Bestandteile des Emmentaler Käses. *Zeitschr. f. physiol. Chemie.* 1904. Bd. XLI. S. 485.

Winterstein, H., Die Reaktionstheorie der Atmungsregulation im Lichte neuerer Untersuchungen. *Klin. Wo.* 1928. Bd. VII. S. 241.

Derselbe, Kohlensäure und Atmungsregulation. *Pflügers Arch.* 1929. Bd. CCXXII. S. 411.

Wishart, G., On the reduction of methylene blue by tissue extracts. *Biochem. journ.* 1923. Vol. XVII. p. 103.

Wöhlk, A., Über die Einwirkung von Brom und Kaliumpermanganat auf Zitronensäure (Stahres Reaktion) und den Nachweis von Citronensäure in Milch. *Zeitschr. f. analyt. Chemie.* 1902. Bd. XLI. S. 77.

Woods, E. B., Citric acid metabolism as indicated by urinary examination. *Am. journ. of physiol.* 1926—1927. Vol. LXXIX. p. 321.

Zoethout, W. D., The effects of potassium and calcium ions on striated muscle. *Am. journ. of physiol.* 1902. Vol. VII. p. 199.